



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Medicina della Procreazione e dell'Età Evolutiva

Scuola di Specializzazione in Pediatria

Direttore **Prof. G. Federico**

Tesi di Specializzazione

Valutazione dei pattern di resistenza batterica in bambini

con infezione delle vie urinarie: analisi anni 2011 – 2016

Relatore Chiar.mo

Prof. Giovanni FEDERICO

Correlatore

Dr. Silvano BERTELLONI

Candidato

Dr.ssa Alessia ROMEI

Anno Accademico 2014-2015

INDICE

1	Riassunto	3
2	Introduzione.....	6
2.1	Le infezioni delle vie urinarie	6
2.1.1	IVU: Quadro Clinico.....	10
2.1.2	IVU: Diagnosi	11
2.1.3	IVU: Studio dell'apparato urinario con tecniche di imaging	14
2.1.4	IVU: strategie terapeutiche.....	17
2.1.5	IVU: outcome:	19
2.2	Antibiotico-resistenza in età pediatrica: inquadramento generale.....	20
2.2.1	Resistenza batterica: aspetti clinici.....	29
2.2.2	Antibiotico-resistenza nelle Infezioni delle Vie Urinarie	32
3	Scopo dello studio.....	35
4	Pazienti e metodi	36
4.1	Pazienti.....	36
4.2	Metodi	37
4.2.1	Raccolta urine.....	37
4.2.2	Esami ematochimici.....	38
4.2.3	Analisi statistica.....	38
5	Risultati	40
5.1	Età, sesso e sintomatologia.....	40
5.2	Stick urinario.....	43
5.3	Esami ematochimici.....	44
5.3.1	Leucocitosi.....	45
5.3.2	Proteina c Reattiva (PcR).....	45
5.3.3	Procalcitonina (PCT):.....	51
5.4	Ecografia dei reni e delle vie urinarie:.....	57
5.5	Analisi dell'urinocoltura:.....	59
5.5.1	Urinocoltura: Anno 2011.....	59
5.5.2	Urinocoltura: Anno 2012.....	60
5.5.3	Urinocoltura: Anno 2013.....	61
5.5.4	Urinocoltura: Anno 2014.....	62
5.5.5	Urinocoltura: Anno 2015.....	63
5.5.6	Urinocoltura: Anno 2016.....	64
5.6	Multiresistenza.....	67
5.7	Terapia antibiotica.....	68
6	Discussione	69
7	Conclusioni.....	83
8	Bibliografia.....	86

1 Riassunto

Premessa. Le infezioni delle vie urinarie (IVU) sono patologie caratterizzate da uno stato di flogosi acuta causato dalla presenza di patogeni in attiva moltiplicazione all'interno delle vie urinarie stesse. L'attiva moltiplicazione batterica è accompagnata da un impianto a livello dell'uroepitelio con segni d'infiammazione e persistenza del ceppo patogeno nelle vie urinarie. Una volta iniziata la colonizzazione questa può esitare in tre condizioni: la batteriuria asintomatica, la cistite e la pielonefrite.

Un interessamento del parenchima renale costituisce la condizione più allarmante sia nell'immediato, per il rischio di sepsi, soprattutto nei lattanti di età inferiore ai 3 mesi, sia nel lungo termine, in quanto la pielonefrite può esitare in una cicatrice renale (*scar*). Una terapia antibiotica tempestiva ed adeguata è fondamentale per prevenire tali complicanze.

In prima istanza, la scelta dell'antibiotico è empirica e si basa sui profili di resistenza dei ceppi locali. Una scelta appropriata della terapia è una strategia importante anche nella prevenzione della diffusione della resistenza, dal momento che l'uso di antibiotici con spettro troppo ampio può favorire lo sviluppo di resistenze che si stanno diffondendo anche nella popolazione pediatrica.

L'isolamento di microrganismi antibiotico resistenti, si è verificato inizialmente in ambito ospedaliero. Tali microorganismi tuttavia, hanno iniziato a diffondersi anche nella comunità generale, tanto che, l'incidenza di infezioni urinarie causate da

ceppi resistenti sta aumentando in tutto il mondo. In particolare, i ceppi produttori di “ β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) stanno diventando sempre più resistenti anche ad antibiotici non- β -lattamici, ponendo il problema di significativi cambiamenti nelle strategie terapeutiche delle IVU nel bambino.

Scopi dello studio. In questa tesi è stata valutata la frequenza di IVU nei bambini ricoverati nell’UO Pediatria Universitaria dell’Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana tra il mese di gennaio 2011 e il mese di maggio 2016, sono poi state analizzate la tipizzazione dei batteri responsabili dell’infezione, la presenza di resistenze batteriche, le indagini ematochimiche effettuate e la loro predittività per pielonefrite e multiresistenza, le modalità di trattamento antibiotico.

Pazienti e Metodi. Sono stati inclusi nello studio 163 pazienti ricoverati presso la U.O. Pediatria Universitaria tra gennaio 2011 e maggio 2016, con accertata diagnosi di IVU.

Di tali pazienti è stato valutato il quadro clinico all’ingresso, le caratteristiche dello stick urine all’ingresso, il numero di globuli bianchi (GB) e indici infettivi (Pcr e PCT) all’ingresso, l’ecografia delle vie urinarie, l’urinocoltura, il microorganismo coinvolto e l’antibiogramma corrispondente.

Risultati. La presenza di uno stick urinario francamente positivo per GB e Nitriti è risultato associato ad una maggiore probabilità di multiresistenza all’antibiogramma ($p=0.01$), rilevata nel 38.6% delle urinocolture, mentre la resistenza ad un singolo antibiotico è stata rilevata nel 18.1%

L'associazione di una PcR e una PCT patologiche sembra correlato ad un maggior riscontro di un quadro ecografico patologico, in particolare l'associazione è più forte per elevati livelli di PCT ($p < 0.05$).

Nel corso dei sei anni analizzati è stata rilevata una multiresistenza crescente.

Le classi di antibiotici oggetto di resistenza sono risultate soprattutto i β -lattamici e il Trimeptoprim-Sulfametossazolo, inoltre, è stata riscontrata una resistenza in aumento verso la classe dei chinolonici e degli aminoglicosidi.

Conclusioni. Nelle IVU la terapia antibiotica è generalmente iniziata empiricamente, la scelta corretta del farmaco antimicrobico empirico richiede una buona conoscenza della batteriologia tipicamente coinvolta nelle infezioni del tratto urinario e una conoscenza dei modelli di resistenza locali.

I dati di questa tesi dimostrano che pochi esami ematici di primo livello, in particolare la determinazione della PCT, possono individuare la presenza di un'infezione delle alte vie urinarie. Inoltre, il riscontro contemporaneo di valori al di sopra dei livelli normali di GB, PcR e PCT, sembra in grado di selezionare i bambini con una maggiore probabilità di multiresistenza antibiotica.

Negli ultimi anni si è verificata una crescente resistenza verso le maggiori classi di antibiotici, anche verso quelle scarsamente utilizzate in ambito pediatrico, come chinoloni e aminoglicosidi. È stata rilevata inoltre una crescente multiresistenza. La Nitrofurantoina si è dimostrata gravata da bassa antibiotico-resistenza e potrebbe rappresentare un'alternativa per la terapia orale, soprattutto nei bambini più grandi.

Per evitare un ulteriore aumento di questo fenomeno è quindi necessario attuare strategie multidisciplinari.

2 Introduzione

2.1 Le infezioni delle vie urinarie

Per infezione delle vie urinarie (IVU) si intende uno stato di flogosi acuta causato dalla presenza di patogeni in attiva moltiplicazione all'interno delle vie urinarie stesse, normalmente sterili. L'attiva moltiplicazione batterica è accompagnata da un impianto a livello dell'uroepitelio, con segni d'infiammazione e persistenza del ceppo patogeno nelle vie urinarie [1].

La presenza di batteri, in assenza di una loro attiva moltiplicazione, ma soprattutto di un'adesione/impianto epiteliale e, in assenza di segni urinari di flogosi, è invece considerata una semplice contaminazione e definita **batteriuria asintomatica**. Questa condizione non necessita di terapia nell'individuo immunologicamente competente, essendo spesso transitoria e comunque a rapido esaurimento [2].

Un'altra condizione è rappresentata dalla **Sindrome Uretrale** o **Uretrite**, un'infiammazione o irritazione dell'uretra con evidenza di piuria all'urostick ma con urinocoltura negativa [3]

Le IVU vengono clinicamente distinte in due categorie: le infezioni delle alte (**pielonefrite**), e delle basse vie urinarie (**cistiti**)[2].

La presenza di febbre, soprattutto se elevata, è ritenuto il più semplice e attendibile marker di localizzazione parenchimale dell'infezione e depone quindi per un'infezione alta.

Un interessamento del parenchima renale costituisce la condizione più allarmante sia nell'immediato, per il rischio di sepsi, soprattutto nei lattanti di età inferiore ai 3 mesi, sia nel lungo termine, in quanto la pielonefrite può esitare in una cicatrice renale [4].

Data l'importanza del sintomo, oggi è dunque universalmente accettata la classificazione in infezioni delle vie urinarie febbrili e non febbrili.

Le vie urinarie sono normalmente sterili e il flusso di urina rappresenta la prima arma di difesa contro la colonizzazione delle mucose dell'uroepitelio. Condizioni che favoriscono il ristagno o la risalita di urina lungo gli ureteri, come ad esempio l'incoordinazione vescicale, la tortuosità o la dilatazione degli ureteri, nei reflussi di alto grado, importanti dilatazioni delle pelvi renali, come la stenosi del giunto pielo-ureterale, possono favorire le infezioni causate da patogeni diversi da *E. coli*.

Una volta iniziata la colonizzazione questa può esitare in 3 condizioni:

- la batteriuria asintomatica
- la cistite
- la pielonefrite.

Nell'ultimo caso l'*E. coli*, aderendo all'epitelio con le sue fimbrie, risale controcorrente fino al parenchima renale dove l'endotossina del batterio attiva i cosiddetti "*Toll-like receptors*". Questi costituiscono una famiglia di recettori facente parte dell'immunità innata. L'attivazione dei *Toll-like receptors* accende la cascata

infiammatoria attraverso la produzione di citochine (IL-1, IL-6, IL-8) chemochine, ossido di azoto (NO), *transforming growth factor* β (TGF- β). La risposta infiammatoria indotta da questi mediatori favorisce l'aumento della permeabilità vascolare (TNF- α) e il richiamo dei neutrofili (IL-8) [5].

È quindi la risposta flogistica, soprattutto se eccessiva e prolungata, a rappresentare uno dei fattori che determinano il danno parenchimale e l'eventuale successiva evoluzione in cicatrice (*scar*) (Fig. 1) [4].

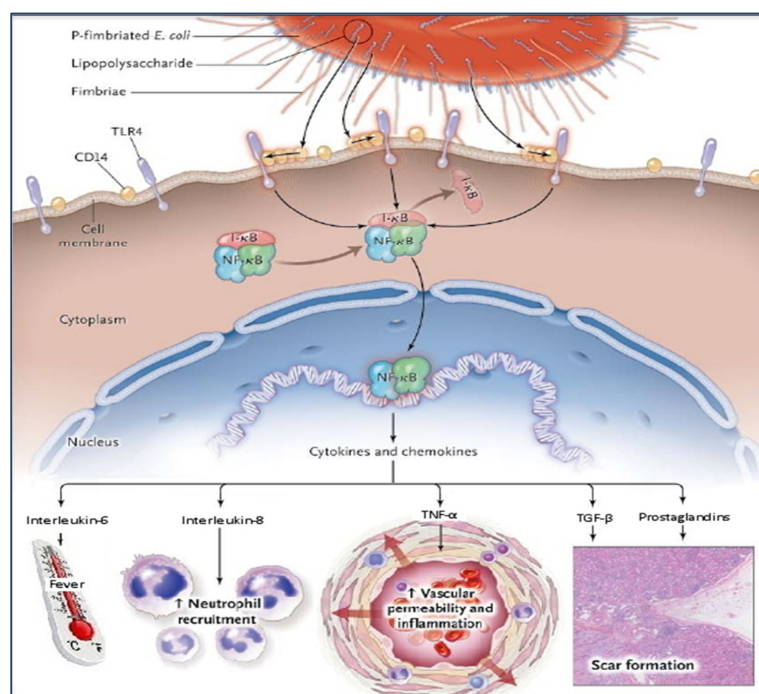


Figura 1. Patogenesi della pielonefrite acuta e del conseguente danno renale
[Da Morello; Acute pyelonephritis in children. Pediatr Nephrol. Mod.].

Questo esito dell'infezione rappresenta una fonte di notevole preoccupazione, in quanto è associato a complicanze future, tra cui un alterato sviluppo renale, la presenza di pielonefriti ricorrenti in età adulta, una funzione glomerulare ridotta, ipertensione precoce e insufficienza renale di grado severo [1].

Alcune condizioni congenite o acquisite, come il reflusso vescico-ureterale (RVU), disfunzioni neuromuscolari, disordini della minzione, costipazione, stenosi del collo vescicale e la presenza di catetere facilitano lo sviluppo di IVU (Fig. 2) [6]. Nello sviluppo di infezioni ricorrenti e nel processo che conduce al danno parenchimale in corso di IVU febbrile e all'eventuale formazione di *scar* sono state segnalate anche predisposizioni familiari e genetiche [7], soprattutto nell'espressione dei *Toll-like receptor* deputati all'attivazione della cascata della flogosi [8], e anche un'eventuale ritardo nell'inizio della terapia (Fig. 3).

Anatomic and Functional Anomalies Associated with Increased UTI Risk	
Lower Urinary Tract Anomalies	Upper Urinary Tract Anomalies
Urachal Remnant	Ureteropelvic Junction Obstruction
Posterior Urethral Valves	Cystic Kidney Disease
Ureterocele	Nephrolithiasis
Vesicoureteral Reflux	Medullary Sponge Kidney
Ectopic Ureter	Duplicated Collecting System (with/without ureterocele)
Megaureter	
Prune Belly Syndrome	
Neurogenic Bladder	

Figura 2. Alterazioni anatomiche e funzionali associate con un maggior rischio di IVU. [Da The Diagnosis, Evaluation and Treatment of Acute and Recurrent Pediatric Urinary Tract Infections]

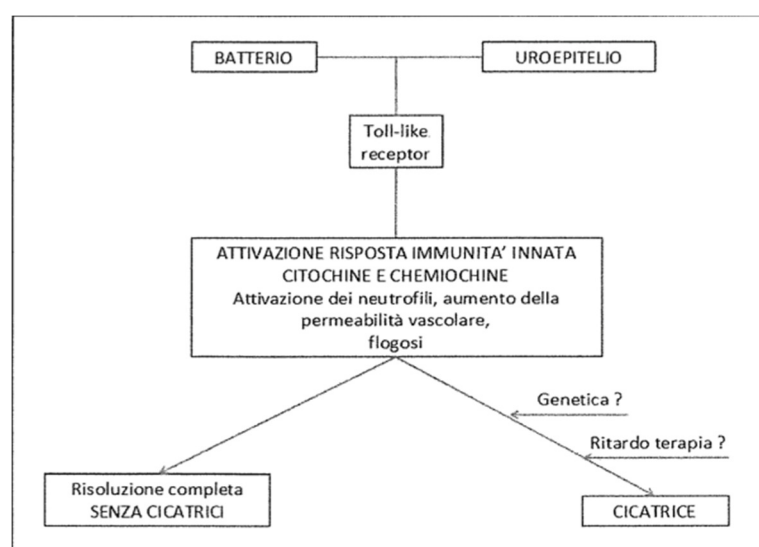


Figura 3. Fattori coinvolti nella patogenesi di scar parenchimale a livello renale in corso di pielonefrite. [Da Zaffanello; *Genetic susceptibility to renal scar formation after urinary tract infection: a systematic review and meta-analysis of candidate gene polymorphisms*. *Pediatr Nephrol. Mod*].

2.1.1 IVU: Quadro Clinico

I sintomi di IVU usualmente variano a seconda dell'età del soggetto.

Nei primi anni di vita, la febbre, senza segni di localizzazione, è causata da un'IVU nel 7% dei casi e può essere a sua volta, l'unico sintomo di un'IVU [9-14].

Eventuali sintomi aspecifici di accompagnamento, presenti soprattutto nei bambini più piccoli, come, il vomito, la letargia, l'irritabilità, talvolta anche in assenza di febbre, possono testimoniare la gravità dell'IVU [15, 16]; tali sintomi vanno attentamente considerati nel neonato e nel lattante per il rischio di un'evoluzione settica. I bambini con questa variabilità di sintomi patologici, sono infatti a più alto rischio di complicanze, come la sepsi e la meningite [17], eventualità comunque rare, anche in presenza di febbre molto elevata, a meno che non sia presente un'ostruzione delle vie urinarie o il bambino sia immunocompromesso [18]. La febbre elevata $>38,5^{\circ}\text{C}$ è comunque considerata un fattore di rischio e marker di coinvolgimento parenchimale (pielonefrite) [4]. Nella prima infanzia, inoltre, le IVU possono anche essere accompagnate da un quadro di pseudoipoadosteronismo transitorio, con grave iponatriemia associata o meno ad iperkaliemia [19, 20].

Nei bambini più grandi, sintomi quali disuria, stranguria, pollachiuria, urgenza minzionale, urine maleodoranti, incontinenza, ematuria e dolore sovrapubico indicano infezioni del tratto urinario inferiore, mentre febbre e dolore al fianco suggeriscono un'infezione del tratto urinario superiore.

In tutti i bambini con febbre $>38^{\circ}\text{C}$, senza segni di localizzazione, deve essere quindi sospettata un'IVU ed è necessario eseguire un esame urine. Lo stesso vale nei casi in cui il bambino presenti una sintomatologia suggestiva (febbre, scarsa crescita, diarrea, vomito, urine maleodoranti, dolore addominale).

2.1.2 IVU: Diagnosi

I principali criteri per la diagnosi di IVU sono riassunti in Tabella 1 .

Tabella 1. Criteri criteri clinici e di laboratorio per la diagnosi di IVU in età pediatrica
[Da Tiab; *Diagnostic accuracy on the management of acute paediatric urinary tract infection in a general paediatric unit*].

Criteria for diagnosis UTI.		
	Diagnosis	Criteria
UTI	Symptomatic	a. Clean catch needs ≥ 2 samples with pure growth of single organism $>10^5$ with positive urinalysis for infection b. SPA/Catheter sample needs only growth of organism which count may be $<10^5$ (50 000 CFU/mL) c. Symptom of UTI or more non specific in younger age group
	Possible/Suspected	a. Based on single clean catch per urethra with growth of single organism $>10^5$ b. Young children who are empirically started on antibiotic to treat other condition ie URTI, but showed either mixed or sterile growth on urine culture (Masked by antibiotic coverage) c. Low count bacterial count (10^4 – 10^5 CFU) on urine culture with persistent UTI symptom (Lower Count UTI)
	Non UTI	a. Clean catch needs ≥ 2 samples with pure growth of single organism $>10^5$ without significant pus cell b. No symptom of UTI
	Asymptomatic bacteriuria	Persistent pyuria without any growth or count $<10^5$ of organism on urine culture
	Urethral syndrome	a. Multiple organism seen on urine culture b. Epithelial cells on urine microscopy c. Varying organism between sample d. Identified organisms like streptococcus or corynebacterium on urine culture are regarded as contaminants
	Contamination	

Il “gold standard” per la diagnosi è rappresentato comunque dalla positività dell’urinocoltura, cioè la crescita di un’unica specie patogena con conta delle colonie >100.000 ufc/ml.

La raccolta delle urine deve avvenire nel modo più accurato possibile. I metodi utilizzati sono:

- puntura sovrapubica,
- cateterismo vescicale,
- mitto intermedio,
- sacchetto perineale.

Una volta raccolte le urine è diventata pratica clinica comune utilizzare gli urostick cioè, uno strumento semplice ed economico per individuare i soggetti che hanno un’alta probabilità di avere un’IVU, ma soprattutto per escluderne tale diagnosi in caso di negatività [21]. I parametri più utilizzati sono l’esterasi leucocitaria (marcatore di leucocituria) e il test dei nitriti (marcatore di batteriuria).

L'esterasi leucocitaria ha un'elevata sensibilità (fino al 94%), ma non altrettanto buona specificità, in quanto, altre condizioni, come la febbre di per sé, possono causare leucocituria. Ha quindi un alto valore predittivo negativo, cioè la sua negatività virtualmente esclude la presenza di un'IVU.

Il test dei nitriti utilizza la capacità della maggior parte dei batteri Gram-negativi di trasformare i nitrati di origine alimentare in nitriti. Dal momento che, questa trasformazione richiede minimo 4 ore, è ovvio che il test, soprattutto nel lattante che urina molto spesso, ha una bassa sensibilità ma un'elevatissima specificità. Un test dei nitriti positivo è quindi un marcatore praticamente certo di IVU [22] [23] ed un ottimo test di screening che permette di intraprendere una terapia antibiotica precoce [24].

L'associazione tra nitriti urinari e infezioni del tratto urinario è stata riportata per la prima volta già nel 1914 ed è stata spesso oggetto di indagine [25]. I vantaggi di utilizzare la ricerca dei nitriti urinari per la diagnosi di IVU sono rappresentati da basso costo, rapidità con cui i risultati sono disponibili, e la possibilità di classificare i pazienti in due gruppi distinti: nitriti positivi o negativi [26, 27]. Diversi microorganismi uropatogeni, quali *E. coli*, *Klebsiella* e *Proteus*, sono in grado di ridurre i nitrati in nitriti, mentre altri patogeni urinari non hanno questa capacità. Diversi fattori però, possono portare ad un risultato falso negativo (Tabella 2) [28, 29]. Pertanto, uno stick negativo per i nitriti ha poco valore per escludere un'IVU.

Tabella 2. Fattori che possono portare ad un risultato falso negativo nel test dei nitriti all'urostick [28].

Test dei nitriti: falsi negativi
- breve periodo di tempo tra la raccolta e il controllo delle urine
- quantità di batteriuria
- pH urinario inferiore a 6.0
- presenza di organismi in grado di ridurre i nitriti in ammoniaca
- presenza di sangue nelle urine
- presenza di urobilinogeno nelle urine
- Presenza di farmaci o acido ascorbico nelle urine

In alcuni studi, è stata inoltre valutata la presenza dei nitriti allo stick urinario come fattore determinante per prevedere la resistenza ai comuni antibiotici, e permettere quindi, di intraprendere una terapia empirica più adeguata, prima dei risultati dell'urinocoltura [30]. I risultati dei pochi lavori che hanno indagato questa eventualità hanno però fornito risultati contrastanti [29-32].

Weiz et al. [29] hanno suggerito che l'assenza di nitriti nelle urine è un possibile indicatore della presenza di un microorganismo resistente alla prima e terza generazione di cefalosporine. Grant et al [31] hanno invece concluso che il rilevamento di nitriti non dovrebbe influenzare l'uso di cefalosporine di prima generazione.

Nello studio di Larson et al. [32] non è stata rilevata nessuna differenza significativa tra i tassi di resistenza al Trimetropin-sulfametoxazolo in entrambi i gruppi.

Mahyar et al. [30] hanno valutato un gran numero di antibiotici, come gentamicina, amikacina, acido nalidixico, ampicillina e nitrofurantoina, in aggiunta alla prima e terza generazione di cefalosporine, ma non hanno trovato nessuna

correlazione tra i risultati dei nitriti urinari e la resistenza dei batteri agli antimicrobici.

In conclusione, l'assenza di nitriti non esclude un'IVU, la loro positività è un'ulteriore indicazione ad intraprendere precocemente una terapia antibiotica, ma generalmente questo parametro non può essere utilizzato per determinare una resistenza agli antibiotici.

In seguito al riscontro di IVU febbrile è consuetudine eseguire accertamenti ematochimici, soprattutto la determinazione degli indici di flogosi. Tali accertamenti vengono eseguiti con l'obiettivo di differenziare le IVU delle alte vie da quelle delle basse vie.

La letteratura ha tuttavia dimostrato che tali accertamenti non sono specifici, in quanto sia la conta leucocitaria sia la Proteina C Reattiva (PcR) si sono dimostrati marcatori inaffidabili per localizzare l'infezione a livello renale, mentre la Procalcitonina (PCT) sembra essere l'unico marcatore sensibile e specifico, sia per localizzare una pielonefrite sia per stabilirne l'estensione [33].

2.1.3 IVU: Studio dell'apparato urinario con tecniche di imaging

L'uso delle tecniche di *imaging*, per valutare un bambino dopo una prima infezione delle vie urinarie febbrile, rimane controverso [34].

I principali metodi di *imaging* sono rappresentati da:

- ecografia delle vie urinarie,
- cistouretrografia minzionale,
- scintigrafia con DMSA (acido dimercaptosuccinico) [34],
- ecografia power-doppler.

L'**ecografia** è in grado di evidenziare le anomalie congenite e fornisce dati anatomici importanti, come le dimensioni dei reni in rapporto all'età, l'entità di una dilatazione pellica, il volume vescicale pre- e post-minzionale, lo spessore della sua parete, e la differenziazione cortico-midollare [22, 35].

Le *Linee Guida della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica* raccomandano di eseguire l'ecografia in tutti i bambini con prima IVU febbrile, entro 1 mese dall'infezione. Le *Linee Guida del National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) indicano invece di eseguire un'ecografia solo nei bambini di età inferiore ai 6 mesi, entro 6 settimane dall' infezione. Le linee guida NICE affermano che l'ecografia non è consigliabile nei bambini di età superiore a 6 mesi, in caso di una semplice IVU febbrile [36]. Un'ecografia patologica è un fattore determinante nella scelta di proseguire con approfondimenti strumentali [37].

L'ecografia in urgenza va riservata invece ai bambini che non presentano sfiebrimento dopo i primi 3 giorni di terapia [38]

La **cistouretrografia minzionale** è indicata esclusivamente in presenza di una di queste situazioni:

- 1- Riconcontro di anomalie all'ecografia
- 2- Presenza di IVU febbrili ricorrenti
- 3- IVU con anomalo decorso clinico

L'*American Academy of Pediatrics* (AAP) non raccomanda l'utilizzo della scintigrafia con DMSA come parte della valutazione di routine nei bambini con una prima IVU febbrile, questo perché i risultati delle scansioni nucleari raramente influenzano la gestione clinica acuta e perchè la dose di radiazioni è additivo a quello della cistouretrografia, quando vengono effettuati entrambi gli studi di *imaging* [39]. Alcuni ricercatori raccomandano di eseguire la scintigrafia con DMSA non durante la

fase acuta, ma da 6 a 12 mesi dopo un'infezione acuta per rilevare eventuali cicatrici renali, che richiederebbero un follow-up [40, 41]. Attualmente, la scintigrafia con DMSA è considerata il “gold standard” nel rilevare il coinvolgimento del parenchima renale in pazienti con diagnosi di pielonefrite acuta [42, 43].

Una nuova tecnica di *imaging* è rappresentata dall'ecografia power-doppler. Questo metodo di *imaging* si basa sulla visualizzazione di una diminuzione di sangue arteriolare e capillare nel parenchima renale, per l' edema e l'accumulo di neutrofili intravascolari, associati alla vasocostrizione arteriolare periferica nella zona del rene infetto, nella fase precoce della pielonefrite acuta [44].

Una sintesi del percorso diagnostico per immagini del bambino con IVU è riportato in figura 4.

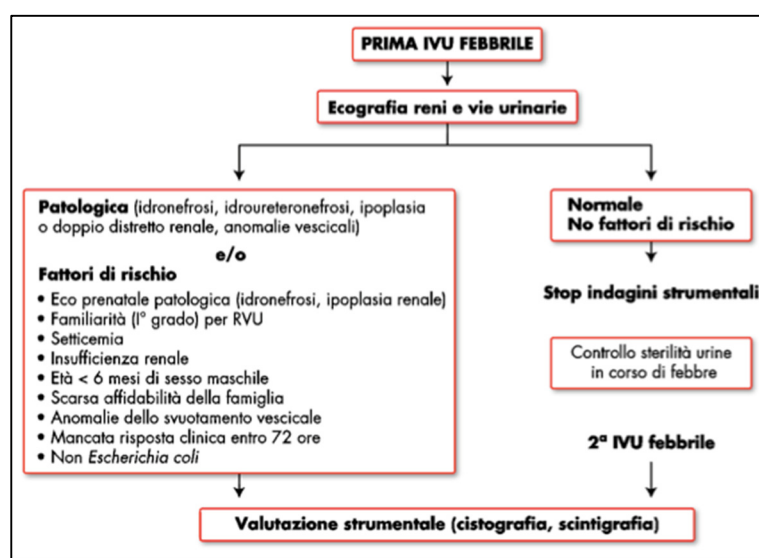


Figura 4. Diagnostica strumentale consigliata in caso di infezione delle vie urinarie.
[Da Le infezioni febbrili delle vie urinarie, MeB 2009].

2.1.4 IVU: strategie terapeutiche

Gli obiettivi della terapia dell'IVU in fase acuta sono:

- l'eradicazione dell'infezione, quindi il miglioramento delle condizioni cliniche
- la prevenzione delle complicanze, soprattutto nel neonato e nel lattante nei primi mesi di vita (sepsi) [15, 45-47].

Fino alla metà degli anni '90, la mancanza di evidenze sull'efficacia della terapia in termini di prevenzione del danno renale, consigliava trattamenti antibiotici somministrati per via parenterale e per tempi prolungati.

Fra il 1995 e il 2001, quattro studi hanno messo a confronto due gruppi di pazienti, il primo trattato con terapia antibiotica endovenosa per 7-14 giorni e il secondo gruppo trattato con terapia antibiotica endovenosa per 3-4 giorni, seguita da terapia antibiotica orale. Una revisione sistematica di questi studi non ha messo in evidenza alcuna differenza tra i due gruppi di pazienti in termini di danno renale a distanza, dimostrando quindi, che la durata della terapia endovenosa non modifica l'outcome a distanza [48]. Inoltre due specifici trials hanno dimostrato che, in una popolazione di bambini da 1 mese a 7 anni, che non c'è alcuna differenza, in termini di esiti a distanza, fra una terapia antibiotica solo orale di 14 giorni e una terapia endovenosa di 3 giorni, seguita dalla terapia orale di 11 giorni [49].

Le linee guida internazionali sono dunque concordi nel raccomandare la via orale come preferenziale per la somministrazione dell'antibiotico-terapia, a meno che, non concomitino situazioni cliniche che ne pregiudichino la corretta somministrazione [50].

Al momento di scegliere tra la terapia orale e parenterale, dovrebbero essere considerati i diversi fattori riassunti in tabella 3 [2].

Tabella 3. IVU: fattori che influenzano la scelta di una terapia antibiotica orale o endovenosa nel bambino.

Fattori per la scelta tra terapia antibiotica orale o endovenosa
età del paziente
sospetto clinico di urosepsi
rifiuto ad assumere liquidi, cibo e/o farmaci per via orale
presenza di vomito e/o diarrea
presenza di IVU febbrile complessa (es. dilatazioni del tratto renale superiore)

Per la maggiore incidenza di urosepsi e grave pielonefrite in neonati e bambini con meno di due mesi di vita, in questi casi è raccomandata una terapia antibiotica parenterale, anche considerando che a questa età possono verificarsi più frequentemente disturbi elettrolitici con iponatriemia e iperkaliemia conseguenti a pseudoipoadosteronismo [19, 20, 51].

In prima istanza, la scelta dell'antibiotico è empirica e si basa sui profili di resistenza dei ceppi locali [22]. In generale, è indicato l'uso di antibiotici ritenuti con profili di bassa resistenza, come l'amoxicillina in associazione con acido clavulanico o una cefalosporina di 3° generazione, per una durata complessiva di 7-10 giorni.

Come accennato precedentemente, i dati della letteratura dimostrerebbero che nel processo che conduce al danno parenchimale in corso di IVU febbrile ed alla eventuale formazione di *scar*, gioca un ruolo importante la componente genetica, soprattutto nell'espressione dei *Toll-like receptor* deputati all'attivazione della cascata della flogosi [8]. Ciò porterebbe a concludere per una suscettibilità individuale al danno renale; che quindi potrebbe non essere indispensabile iniziare la terapia tempestivamente in tutti i bambini. Dal momento che non si conosce però

la predisposizione genetica del paziente è buona pratica iniziare la terapia antibiotica non appena ottenuto un campione di urine presumibilmente patologico sulla base dei risultati dell'urostick [37].

2.1.5 IVU: outcome:

Per quanto riguarda l'outcome di una IVU in un bambino, la funzione renale e l'ipertensione secondaria sono i parametri di maggiore interesse.

- *Funzione renale:* dai dati della letteratura non è possibile stabilire con certezza quale sia il reale rischio di compromissione renale conseguente ad una prima IVU in età pediatrica e in che misura un successivo intervento possa modificare l'evoluzione di un danno iniziale.

Fattori di rischio di danno parenchimale renale sono il reflusso vescico-urinario (RVU) di grado elevato e le recidive di IVU, ma non è stato ancora possibile distinguere il danno acquisito da quello congenito preesistente. Il rischio di nuove *scar* si riduce comunque con l'età, ma i bambini con RVU grave rimangono ad alto rischio [52].

- *Iipertensione:* il rischio è complessivamente basso e associato solo a grave danno parenchimale. Secondo alcuni autori questa complicanza sarebbe secondaria a danno displastico congenito piuttosto che acquisito [53].

2.2 Antibiotico-resistenza in età pediatrica: inquadramento generale

La resistenza dei batteri agli antibiotici, in particolare una resistenza multipla, è diventata un grave emergenza di salute in tutto il mondo. Secondo il Centro Europeo per la Prevenzione e Controllo delle Malattie, nel 2007, la resistenza agli antibiotici ha causato circa 25.000 morti all'anno, un numero pari a circa la metà dei morti per incidente stradale [54].

Gli antibiotici sono raggruppati in classi (o famiglie) sulla base della loro struttura chimica, per esempio, β -lattamici (penicilline e cefalosporine), aminoglicosidi (streptomicina, kanamicina e gentamicina) e tetracicline. I membri di una determinata classe sono strettamente correlati e generalmente condividono lo stesso bersaglio nella cellula e sono quindi substrati per lo stesso meccanismo di resistenza [55, 56].

Gli antibiotici sono definiti come metaboliti secondari prodotti da microrganismi nell'ambiente, generalmente il terreno, attivi contro altri microrganismi [57], che agiscono sui batteri o arrestandone la crescita (*agenti batteriostatici*), o uccidendoli completamente (*agenti battericidi*). La loro efficacia deriva dalla loro capacità di bloccare i processi cellulari batterici [58] .

Ci sono due tipi principali di resistenza agli antibiotici: intrinseca e acquisita.

La resistenza intrinseca (o naturale) è presente in tutti i batteri di una specie o di un genere e può quindi essere meglio definita come insensibilità. Questo tipo di resistenza delinea lo spettro di attività di un antibiotico e può essere il risultato delle caratteristiche fisiologiche della specie batterica o della presenza di un gene strutturale.

La resistenza naturale è spesso causata da:

- inaccessibilità del bersaglio agli antibiotici,
- bassa affinità degli antibiotici per il bersaglio,
- assenza del bersaglio.

Nell'ultimo caso, ad esempio, la presenza di una membrana esterna presente nei batteri Gram- (es. *E. Coli*) determina la resistenza a vari classi di farmaci (glicopeptidi, macrolidi, lincosamidi, streptogramine, etc.) a causa dell'impermeabilità a tali molecole [59].

Pseudomonas aeruginosa è un organismo che presenta un'elevata resistenza intrinseca, derivante da una permeabilità della membrana esterna particolarmente bassa, associata a sistemi di efflusso endogeno "multidrug" (come MexAB-OprM e MeXY-OprM) e la presenza di β -lattamasi cromosomicamente codificate (AmpC) [60].

La resistenza acquisita è presente solo in alcuni ceppi della stessa specie o genere. In alcuni casi, può essere molto frequente, ad esempio la produzione di penicillinasi negli stafilococchi è presente in più del 90% dei ceppi [61].

Le resistenze intrinseche e acquisite nei batteri, non differiscono nei meccanismi; entrambe possono impiegare quattro vie principali.

Da un punto di vista biochimico, i batteri hanno infatti sviluppato quattro principali meccanismi di resistenza (Fig. 5):

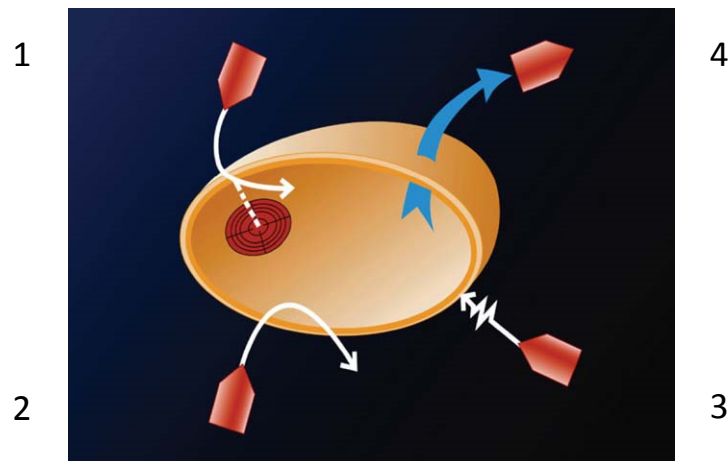


Figura 5. I quattro meccanismi principali di resistenza batterica agli antibiotici [58, 63].

- (1) la modifica del bersaglio, che porta alla perdita o alla diminuita affinità del farmaco per il suo bersaglio;
- (2) la produzione di un enzima che inattiva o modifica il farmaco;
- (3) l'impermeabilità, in particolare dovuta dalla perdita di una porina o ad una diminuzione del suo diametro nei batteri Gram-negativi;
- (4) l'efflusso di antibiotici fuori delle cellule utilizzando energia pompa-dipendente [57, 62].

Da un punto di vista genetico, la resistenza può essere acquisita da due eventi completamente distinti: la presenza di una mutazione nel genoma che viene poi ereditata dalle generazioni successive mediante un processo verticale diretto o l'acquisizione di informazioni genetiche estranee, ottenute da altri batteri, tramite trasferimento orizzontale [63].

A questo proposito, si deve considerare che il genoma dei batteri è costituito dal cromosoma e da elementi genetici mobili accessori, quali plasmidi e trasposoni (Fig. 6).

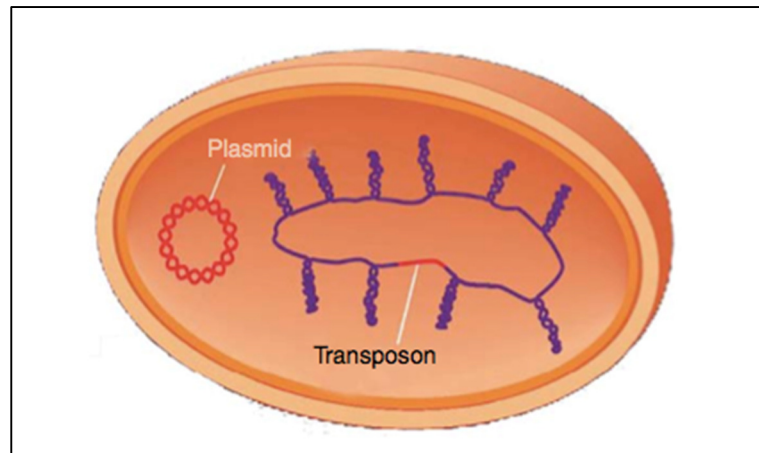


Figura 6. Rappresentazione schematica del genoma batterico
[Da Perichon; *Antibiotic Resistance*]

Il cromosoma contiene tutte le informazioni genetiche necessarie per il ciclo vitale dei batteri. In generale, il cromosoma non è auto-trasferibile orizzontalmente ad altri batteri e i geni di resistenza cromosomica e i geni mutati, coinvolti nella resistenza ai farmaci, sono ereditati verticalmente dalla prossima generazione di batteri. I plasmidi e trasposoni codificano le funzioni che non sono strettamente necessarie per la vita batterica, ma sono in grado di fornire vantaggi per l'ospite. I geni di resistenza agli antibiotici, sono solo transitoriamente utili ai batteri, questo spiega perchè spesso siano trasferibili e facenti parte di elementi genetici mobili. In realtà, qualsiasi gene può essere parte di una struttura mobile, fintanto che fornisce vantaggio selettivo all'ospite e che esercita un'adeguata pressione selettiva. Questi elementi genetici mobili possono quindi essere ereditati sia orizzontalmente che verticalmente (Fig. 7) [63].

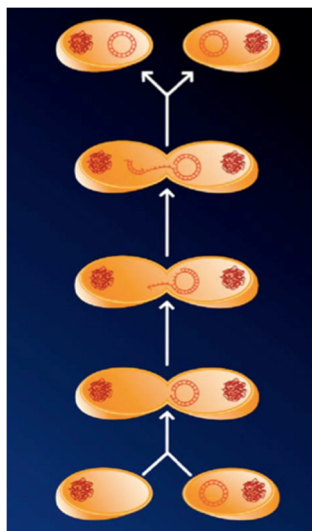


Figura 7. Rappresentazione schematica della coniugazione plasmidica.
[Da Perichon; Antibiotic Resistance]

Poiché questi obiettivi cellulari, spesso sono geneticamente e strutturalmente molto ben conservati attraverso i membri del regno batterico, l'attività di un componente dell'antibiotico, che dovrebbe agire contro un batterio specifico (per esempio un agente patogeno) è probabile che determini un danno collaterale alla comunità batterica che condivide l'ambiente dell'organismo bersaglio.

Quasi ogni superficie del corpo umano dopo la nascita, è colonizzata da una comunità ricca e diversa di microbi commensali [64-66]; questo microbiota, cioè l'insieme dei microbi che vivono in e sul corpo umano, ha ruoli sostanziali per la salute e lo sviluppo fisiologico umano, compresi i processi dietetici e nutrizionali, la prevenzione dell'invasione da parte di agenti patogeni e la maturazione del sistema immunitario [67-69]. Di conseguenza, il trattamento antibiotico per impedire o eradicare un'infezione patogena può avere conseguenze sia a breve che a lungo termine sul microbiota commensale e sul microbioma codificato (il contenuto genomico collettivo del microbiota umano) [70].

Questi aspetti possono essere riassunti in due effetti principali tra loro correlati (Fig. 8): il primo effetto può essere quello in cui nel microbiota vengono cambiate le

proporzioni relative di specie differenti fino all'introduzione di una nuova specie e la completa scomparsa di una specie esistente [71-76]; il secondo effetto consiste nell'alterare il resistoma antibiotico cioè l'insieme di tutto il DNA presente in una matrice, terreno, acque, feci, alimenti, che veicola elementi genici di resistenza agli antibiotici) codificato dai membri del microbiota [77, 78].

Nel primo caso, i cambiamenti nell'architettura del microbiota possono alterare drammaticamente l'omeostasi microbiota-ospite, che può determinare cambiamenti sia transitori sia persistenti sulla fisiologia e sulla salute dell'ospite [79, 80]. In questo caso, l'arricchimento e lo scambio di geni di resistenza all'interno del microbiota aumentano l'accessibilità di tali elementi agli organismi patogeni provocando un'incapacità di trattare adeguatamente le loro infezioni successive [81, 82].

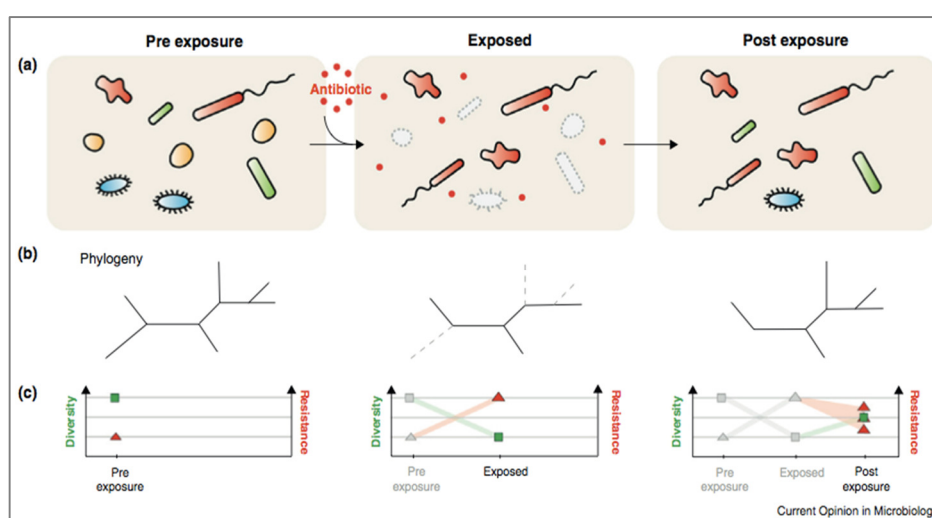


Figura 8. The effects of antibiotic treatment on the microbiota. (a) Before the antibiotic selection, the constituents of the microbiota range in sensitivities towards antibiotics from sensitive (blue, green and yellow) to resistant (red). During exposure susceptible organisms will decrease in abundance, unless they acquire resistance determinants from viable resistant organisms. Upon cessation of treatment some of the susceptible organisms may increase in abundance to previous levels, whereas others will be lost from the microbiota. (b) During antibiotic exposure the microbial community architecture is significantly altered due to the differing sensitivities of the constituent microbes. Following cessation of antibiotic treatment community architecture largely re-establishes yet certain changes persists. (c) Schematic depiction of the changes in species diversity and antibiotic resistance levels upon antibiotic treatment followed by partial recovery of microbial community structure and resistance levels upon cessation of treatment.

I meccanismi delle modificazioni del microbiota antibiotico-indotta sono molto complicati per la variabilità intrinseca del microbiota nei diversi individui.

Un approccio per affrontare questa variabilità è stato quello di utilizzare modelli animali, in cui il genotipo, la dieta e altre variabili, che possono avere un impatto nella composizione del microbiota di base, possa essere controllato, impiegando metodi molecolari ad alta risoluzione per caratterizzarlo [73, 74].

La ripetuta esposizione della flora batterica ad un antibiotico causa un crescente numero di determinanti di resistenza, ulteriormente aggravato dallo scambio di determinanti di resistenza tra batteri diversi. La crescita di questa popolazione batterica resistente e dei geni di resistenza associati è dipendente dalla presenza di un livello basale di resistenza del microbiota. Infatti, anche in assenza di un trattamento con antibiotici, tali popolazioni si trovano generalmente presenti negli esseri umani, animali, e anche nell'"incontaminato" microbiota ambientale [83]. Gli studi che utilizzano metodi di coltivazione anaerobica e aerobica hanno dimostrato che la microflora orale dei bambini che non hanno mai assunto antibiotici contiene una sottopopolazione di specie differenti che sono resistenti alla tetraciclina e altri antibiotici [84]. Le colture aerobiche degli enterobatteri dall'intestino di volontari umani che non avevano assunto antibiotici da oltre un anno, hanno documentato livelli medi di resistenza superiore al 20% a 13 diversi antibiotici [77]. Il trattamento antibiotico aumenta in modo selettivo il numero di questi organismi, con conseguente aumento della prevalenza dei loro geni di resistenza, aumentando quindi la probabilità della loro diffusione tramite il trasferimento genico orizzontale. Uno studio ha infatti documentato un incremento significativo nei livelli di resistenza all'amoxicillina nei bambini esposti a questo antibiotico, nei tre mesi dopo l'esposizione rispetto ad un gruppo di controllo non esposto [85].

Risultati simili sono stati ottenuti isolando *Staphylococcus epidermidis* dalle narici di pazienti trattati con antibiotici [86] e *Bacteroides sp.* isolato dall'intestino [87]. Inoltre, un test con sequenziamento mediante PCR ha dimostrato che l'incremento di specifici geni di resistenza ai macrolidi veniva aumentato fino a 10.000 volte nei soggetti sottoposti a terapia con tali antibiotici rispetto ai livelli pre-trattamento. Tale situazione persisteva fino a due anni dopo la cessazione del trattamento antibiotico [88].

La diffusione di geni di resistenza agli antibiotici richiede, quindi, il trasferimento fisico o l'acquisizione dell'elemento genetico che codifica per la resistenza agli antibiotici. I meccanismi responsabili di questo trasferimento sono la coniugazione, la trasformazione e la trasduzione, che sono processi in grado di trasferire i determinanti di resistenza agli antibiotici in vitro da organismi donatori resistenti verso organismi destinatari sensibili [81, 89].

Il trasferimento di geni di resistenza agli antibiotici nella flora intestinale è stato indagato anche "in vivo" nell'uomo.

Studi basati sull'analisi di colture hanno stabilito che il microbiota commensale umano ospita molti ceppi multiresistenti, il cui carico di geni resistenti agli antibiotici è aumentato costantemente nel corso degli ultimi decenni. Tuttavia, la maggior parte dei costituenti nei microbiota è rimasto inaccessibile alle tecniche colturali tradizionali e i metodi molecolari hanno stimato che il tratto gastrointestinale è la sede di circa 1000 specie diverse e di oltre 7000 ceppi [64, 70]; ciò indica che la nostra conoscenza del resistome antibiotico del microbiota umano è ancora molto limitata [90].

Ad esempio, soggetti volontari umani sani hanno ingerito colture di *Enterococcus faecium*, resistenti ai glicopeptidi o alla streptogramina. Le feci di tali

soggetti sono state poi analizzate tramite coltura e sono stati numerati gli enterococchi isolati resistenti alla vancomicina o alla virginiamicina. I ceppi resistenti ingeriti, sono risultati in grado di moltiplicarsi e persistere nell'intestino umano per sette giorni senza modifiche genetiche rispetto ai ceppi originari, tuttavia, non è stato individuato nessun evento di trasferimento [82, 91].

Nella figura 9 è riportata una rappresentazione schematica di alcuni metodi per la caratterizzazione della resistenza agli antibiotici nel microbiota fecale umano.

1. Un primo metodo per la caratterizzazione dei ceppi del microbiota fecale, resistenti agli antibiotici, inizia con valutazione della crescita degli aspetti fenotipici dei singoli cloni coltivati su supporti contenenti gli antibiotici per determinare la concentrazione minima inibente (MIC). I geni di resistenza sono poi rilevati mediante amplificazione con polimerase chain reaction (PCR), basata sulla sequenza di geni conosciuti o il sequenziamento dell'intero genoma seguito da un'annotazione computerizzata di geni di resistenza, utilizzando l'omologia con geni noti.
2. Il secondo metodo si basa su un approccio coltura-indipendente del resistoma, che consente la caratterizzazione a livello di microbiota di geni di resistenza. L'individuazione e la quantificazione dei geni di resistenza noti può essere effettuata anche in questo caso mediante PCR.
3. La caratterizzazione sia dei geni di resistenza noti, che di quelli nuovi, può essere realizzata attraverso selezioni funzionali metagenomiche, in cui il DNA è direttamente estratto dal campione fecale e clonato all'interno di un sistema di un ceppo ospite coltivabile e geneticamente modificabile (ad esempio *E. coli*). Il trasformante metagenomico ospita frammenti di DNA che codificano geni resistenti agli antibiotici e sono selezionati

sottoponendo l'insieme dei cloni di antibiotici specifici a concentrazioni che inibiscono la crescita del ceppo indicatore non trasformata. Frammenti di DNA selezionati possono quindi essere sequenziati per identificare i geni di resistenza specifici [90].

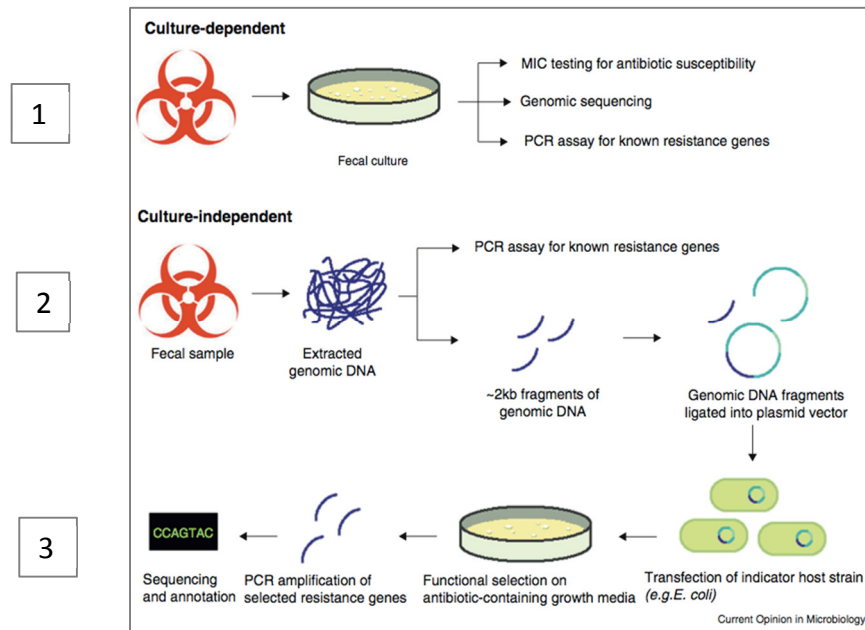


Figura 9. Rappresentazione schematica di metodi per la caratterizzazione di resistenza agli antibiotici dal microbiota fecale umano [90].

2.2.1 Resistenza batterica: aspetti clinici

Anche se il miglioramento delle condizioni igieniche e di nutrizione della popolazione, insieme alla disponibilità di vaccini efficaci e sicuri, ha determinato un'importante riduzione dell'incidenza e della morbilità delle malattie infettive, è ben noto il ruolo di assoluto rilievo avuto a questo proposito dall'introduzione degli antibiotici nella pratica medica [92].

Tuttavia, i farmaci antimicrobici, giustamente considerati prodotti salvavita, sono stati utilizzati anche in situazioni cliniche nelle quali non erano strettamente

necessari con il risultato da un lato di aumentare in modo significativo la spesa sanitaria e dall'altro di accelerare e incrementare lo sviluppo delle resistenze batteriche [93]. L'utilizzo di farmaci in grado di eliminare o ridurre anche la flora batterica saprofita, seleziona inevitabilmente gli stipti resistenti. Se la pressione di selezione è contenuta, come avviene quando l'uso degli antibiotici è limitato ai casi essenziali, l'emergenza delle resistenze avviene lentamente e incide in modo relativamente modesto sulla frequenza di comparsa delle infezioni non più trattabili con l'antibiotico divenuto inattivo. Se, al contrario, la prescrizione di antibiotici è estremamente elevata, la comparsa delle resistenze è rapida e conduce in tempi brevi alla perdita di efficacia di molti di questi farmaci.

Il cattivo uso degli antibiotici è un fenomeno evidenziato da oltre 40 anni, riguarda tutte le specialità mediche ed è non poco aggravato dall'autoprescrizione e dalla pressione esercitata dagli stessi malati sulla classe medica [94].

Il progressivo incremento del problema delle resistenze batteriche è stato affrontato con l'immissione sul mercato di nuovi antibiotici solo fino all'inizio degli anni '90. Dopo questo periodo, la ricerca in questo campo si è di molto ridotta al punto che, dopo il 2000, solo un numero estremamente limitato di nuovi antibiotici è stato approvato per l'uso clinico [95]. Tuttavia, la presa di coscienza che un numero sempre crescente di malati gravi non poteva essere adeguatamente curato, perché nessuno degli antibiotici disponibili era in grado di eliminare i batteri responsabili dell'infezione, ha portato ad una più consistente ricerca per la produzione di nuovi farmaci antinfettivi. Un numero crescente di nuovi antibiotici è stato quindi approvato o è in fase di approvazione [96].

Si pone tuttavia un importante problema per gli antibiotici di recente approvazione o in fase di sviluppo pre-clinico per il loro impiego in pediatria. Il loro

uso di fatto, non è tecnicamente possibile, perché la registrazione è abitualmente effettuata solo per l'impiego nel soggetto adulto, l'unico per il quale esistano adeguati studi di farmacocinetica e farmacodinamica, che consentano di stabilire con precisione la posologia più corretta per ottenere un favorevole effetto clinico con il più basso rischio di eventi avversi importanti [97].

Nella prima fase di sviluppo pre-clinico di un farmaco auspicabilmente rivolto a tutta la popolazione, il bambino, infatti, non viene quasi mai preso in considerazione, sia perché questo soggetto non rappresenta il target commerciale ideale (i bambini sono relativamente pochi rispetto agli adulti e agli anziani), sia perché gli studi di farmacocinetica e farmacodinamica sono in età pediatrica molto complessi, a causa delle profonde differenze nella funzionalità dei vari organi ed apparati e, quindi, della cinetica dei farmaci nelle diverse fasi dell'età pediatrica, che va dal neonato pretermine di alto grado all'adolescenza avanzata. In pratica, ogni nuovo antibiotico o non viene mai registrato per l'età pediatrica o, viene registrato solo dopo molti anni, quando, proprio per l'emergenza di resistenze derivanti dal precedente lungo uso nell'adulto, ha già cominciato a perdere parte della sua iniziale attività [98].

Questa "difficoltà di utilizzo" di molti antibiotici in pediatria, pone un altro problema, cioè del loro uso "off-label", vale a dire al di fuori delle regole prescrittive imposte dalle autorità regolatorie con problematiche medico-legali e pratiche di notevole importanza [99-101].

Il pediatra, che ritiene un certo antibiotico come l'unica possibile soluzione per la terapia di un piccolo paziente affetto da una forma batterica grave, arriva usualmente ad utilizzarlo, anche se il farmaco non è previsto tra quelli prescrivibili in pediatria e adatta "a buon senso" il dosaggio, derivandolo da quello normalmente utilizzato nell'adulto con inevitabile rischio di errori posologici e conseguente

possibile mancato effetto terapeutico o aumentate probabilità d'insorgenza di eventi avversi [102].

Anche se il problema delle resistenze riguarda tutti i batteri, tra quelle che negli ultimi anni hanno maggiormente complicato la terapia dei pazienti pediatrici vi sono le resistenze di *Staphylococcus aureus* (Sa) e di *Mycobacterium tuberculosis* (Mt). Per quanto riguarda Sa, va ricordato che alla ben nota resistenza alle penicilline penicillinasi-resistenti (MRSA), si è negli ultimi anni aggiunta la resistenza alla vancomicina, da sempre ritenuta il farmaco di scelta nelle forme sostenute da MRSA [103].

Infine, oltre all'eccessivo uso di antibiotici, un ulteriore fattore favorente l'emergenza di resistenze è rappresentato dall'uso di dosaggi non ottimali, che determinano il contatto per lungo tempo tra batteri e concentrazioni di antibiotico inferiori alla minima inibente [104].

Ciò sottolinea la necessità che le prescrizioni di antibiotici, oltre che da effettuare solo nei casi in cui questi farmaci hanno elevata probabilità di essere efficaci, tengano sempre in considerazione la posologia ottimale e gli adeguati periodi di somministrazione

2.2.2 Antibiotico-resistenza nelle Infezioni delle Vie Urinarie

Nelle IVU, la terapia antibiotica viene generalmente iniziata empiricamente sulla base della sintomatologia clinica e dei risultati dell'urostick, perché, come precedentemente esposto, il trattamento precoce diminuisce il tasso di morbidità. La scelta corretta del farmaco antimicrobico empirico richiede una buona conoscenza della batteriologia tipicamente coinvolta nelle infezioni del tratto urinario [105-107],

una conoscenza dei modelli di resistenza locali, così come la storia antimicrobica e microbiologica del paziente specifico, se disponibile [108]. Una scelta appropriata della terapia è una strategia importante nella prevenzione della diffusione della resistenza, dal momento che l'uso di una terapia antibiotica eccessivamente ampia può favorire lo sviluppo di nuove resistenze.

Una classe di antibiotici, particolarmente in uso nell'età pediatrica per il trattamento delle IVU, è quella dei β -lattamici, che, dopo settant'anni di uso clinico, sono ancora all'avanguardia nell'antibiotico-terapia. La principale minaccia per questi farmaci è la presenza di enzimi batterici, le β -lattamasi, che idrolizzano il legame β -lattamico e inattivano l'antibiotico. Secondo la classificazione molecolare di Ambler questi enzimi possono essere raggruppati, in base alla struttura primaria, in 4 classi (A-D) geneticamente diverse. Nella classe D sono presenti β -lattamasi in grado d'inattivare l'intero spettro di antibiotici β -lattamici (penicilline, cefalosporine e carbapenemi). Le varianti delle β -lattamasi a spettro ristretto sono più efficaci contro le penicilline e cefalosporine di prima generazione, mentre le varianti denominate con " β -lattamasi a spettro esteso (ESBL)" pongono un problema clinico più grave poiché sono in grado di legare e idrolizzare le cefalosporine di generazioni successive alla prima [109].

Organismi produttori di ESBL sono stati segnalati nei primi anni 1980 [110]. Questi enzimi sono prodotti dai membri della famiglia *Enterobacteriaceae*, prevalentemente *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e *Klebsiella oxytoca*, che sono i principali agenti infettivi che causano le IVU nei bambini [111].

L'isolamento di microrganismi produttori di ESBL si è verificato inizialmente in ambito ospedaliero e altre strutture sanitarie; tali organismi tuttavia, hanno iniziato a diffondersi anche nella comunità generale, tanto che, l'incidenza di infezioni

urinarie causate da ceppi ESBL-produttori sta aumentando in tutto il mondo [112-116]. Inoltre, i ceppi produttori di ESBL stanno diventando sempre più resistenti agli altri antibiotici non- β -lattamici, e questo pone il problema di significativi cambiamenti terapeutici [113].

Diversi studi sono stati condotti per analizzare i fattori di rischio associati alle infezioni da ceppi produttori di ESBL negli adulti [117, 118]. Tuttavia, i dati disponibili per quanto riguarda le IVU in età pediatrica causate da tali ceppi rimangono limitati [119].

3 Scopo dello studio

Lo scopo di questa tesi è stato quello di ricercare la frequenza di IVU nei bambini ricoverati nell'UO Pediatria Universitaria dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana tra il mese di gennaio 2011 e il mese di maggio 2016.

Sono state inoltre analizzate la tipizzazione dei batteri responsabili dell'infezione, la valutazione delle resistenze batteriche, le indagini ematochimiche effettuate e la loro predittività per pielonefrite e multiresistenza all'antibiogramma, le modalità di trattamento antibiotico.

4 Pazienti e metodi

4.1 Pazienti

Sono stati raccolti i dati relativi ai bambini con accertata diagnosi di IVU tra il gennaio 2011 e maggio 2016 rispetto al totale dei ricoveri tramite il sistema statistico dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana (codici DRG 595.0; 590.80; 595.5).

Per ogni paziente con IVU sono stati poi raccolti i seguenti dati:

- Età
- Sesso
- Presenza di febbre e/o altri sintomi associati
- Caratteristiche dello stick urine all'ingresso
- Numero di globuli bianchi e indici infettivi (Pcr e PCT) all'ingresso
- Eventuale ecografia delle vie urinarie
- Urinocoltura, microorganismo coinvolto e antibiogramma
- Ricerca di campioni con sospetto di eventuale contaminazione
- Terapia antibiotica effettuata (endovenosa o orale)

Sono stati esclusi dall'analisi i bambini con IVU valutati in corso di Osservazione Breve Intensiva (OBI) pediatrica, in quanto non codificati tramite il sistema statistico informatico dell'Azienda Ospedaliera Pisana.

4.2 Metodi

4.2.1 Raccolta urine

Il campioni di urina sono stati raccolti con il metodo del sacchetto perineale dopo accurato lavaggio della zona genitale (almeno tre lavaggi con acqua e sapone) per assicurare la sterilità del campione raccolto o, quando possibile, con raccolta del mitto intermedio. Su tale campione è stato effettuato uno stick urine e successivamente è stato inviato, entro 2 ore dalla raccolta, presso la U.O. Microbiologia per un'analisi colturale e l'esecuzione dell'eventuale antibiogramma.

Nell'analisi dello stick urinario è stata valutata la presenza di leucocituria (GB), di nitriti (N) o di entrambi (GB+N).

Sono state poi valutati i risultati delle urinocolture tenendo in considerazione:

- il microrganismo coinvolto,
- i campioni con sospetto di eventuale contaminazione (presenza due o più specie batteriche in un singolo campione con bassa carica batterica,
- la resistenza agli antibiotici testati nell'antibiogramma, valutando la presenza di un incremento di tale resistenza nel corso dei 6 anni presi in considerazione in questa tesi,
- la presenza di una multi-resistenza a 2 o più antibiotici.

Per valutare la presenza di resistenza batterica sono stati considerati gli antibiotici abitualmente testati in corso di antibiogramma presso il Laboratorio della U.O. Microbiologia Universitaria:

Acido Fusidico, Amikacina, Amoxicillina/Clavulanato, Ampicillina, Ampicillina/Sulbactam, Azitromicina, Cefepime, Cefotaxime, Cefpodoxime, Cefoxitina, Ceftazidime, Cefuroxime, Ciproloxacina, Colistina, Claritromicina,

Clindamicina, Daptomicina, Eritromicina, Ertapenem, Fosfomicina, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacin, Linezolid, Meropenem, Moxifloxacin, Nitrofurantoina, Norfloxacin, Oxacillina, Piperacillina, Piperacillia/Tazobactam, Rifampicina, Streptomicina, Teicoplanina, Tetraciclina, Tigeciclina, Tobramicina, Trimetoprim-Sulfametossazolo, Vancomicina.

4.2.2 Esami ematochimici

Sono stati valutati i seguenti esami ematochimici: numero dei leucociti (GB; v.n. $< 14 \times 10^3/\mu\text{L}$); Proteina c Reattiva (PcR) (v. n. $< 0,50 \text{ mg/dL}$), Procalcitonina (PCT) (v.n. $< 0,5 \text{ ng/mL}$). Per i valori di normalità sono stati adottati i parametri indicati dal laboratorio di riferimenti (U.O. Laboratorio di Analisi Cliniche dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana). I criteri adottati presso l'U.O. Pediatria Universitaria per l'esecuzione di tali indagini in bambini febbrili sono:

- età del paziente
- condizioni generali
- recidiva di pregressa IVU
- dubbio diagnostico

4.2.3 Analisi statistica

I dati sono stati analizzati attraverso l'uso del software NCSS®: le variabili continue sono espresse come media \pm deviazione standard mentre le variabili discrete sono espresse come numero e/o percentuale.

Le differenze tra le medie sono state paragonate con un Test t Student o Wilcoxon Sum Rank Test, invece le variabili discrete sono state confrontate mediante il Test del χ^2 .

L'analisi di regressione lineare (Spearman Rank) è stata utilizzata per le variabili continue distribuite in modo normale. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato significativo.

5 Risultati

5.1 Età, sesso e sintomatologia

Negli anni presi in esame (gennaio 2011 e maggio 2016), sono stati ricoverati presso la U.O. Pediatria Universitaria un totale di 4.651 bambini e adolescenti (età 29 giorni-18anni), di cui 163 pazienti affetti da IVU (3.5%).

Del campione totale, 96 soggetti (59%) sono risultati di sesso femminile e 67 (41%) di sesso maschile, con un'età media di 3.1 ± 4.8 anni (range 1 mese-17.5 anni). La durata media del ricovero è stata di 5.3 ± 2.4 giorni.

In questo campione, la febbre è stata il sintomo più comunemente riscontrato o la causa di ricovero in corso di IVU, rilevata in 138 pazienti (84.7%). In 25 pazienti la sintomatologia è stata invece caratterizzata più frequentemente da: dolore addominale (36%), sintomi gastrointestinali (vomito e diarrea) (44%), sintomi urinari (disuria, stranguria, incontinenza urinaria)(28%).

Nei 138 bambini che invece hanno presentato febbre, altri sintomi più frequentemente associati sono stati:

- sintomi gastrointestinali (vomito, diarrea, rigurgiti frequenti) (34,8%)
- disappetenza (26%)
- segni neurologici, come convulsioni febbrili, irritabilità, cefalea, sopore (18,8%)
- dolore addominale o lombare (16,7%)

- sintomi urinari, tra cui stranguria, disuria, contrazione della diuresi ecc.
(14,5%)

Suddividendo il campione in 2 gruppi, cioè bambini al di sotto dei 2 anni o al di sopra dei 2 anni di età, si è osservata una diversificazione della sintomatologia di accompagnamento più frequenti (Tabella 4). Nel primo gruppo, i sintomi gastrointestinali e la disappetenza rappresentavano infatti quelli più frequenti seguiti da disturbi neurologici. Nel gruppo dei pazienti al di sopra dei 2 anni di età, i sintomi più frequenti sono invece risultati il dolore addominale e quelli urinari seguiti da manifestazioni gastrointestinali. I sintomi gastrointestinali sono gli unici che hanno presentato una frequenza analoga nelle due classi di età (tabella 4). Tali dati sono rappresentati graficamente in figura 10.

Tabella 4. Sintomatologia presentata nei bambini con IVU in rapporto all'età
(*stranguria, disuria, contrazione della diuresi ecc.; ^vomito, diarrea, rigurgiti frequenti; ^convulsioni febbrili, irritabilità, cefalea, sopore).

Sintomo	< 2 anni (n. 115) %	> 2 anni (n. 48) %
Sintomatologia gastro-intestinale	35.6	31.2
Disappetenza	29.6	14.6
Sintomatologia neurologica^	19.1	10.4
Sintomatologia urinaria*	4.3	45.8
Scarsa crescita	2.6	4.2
Dolore addominale/lombare	0.87	66.7

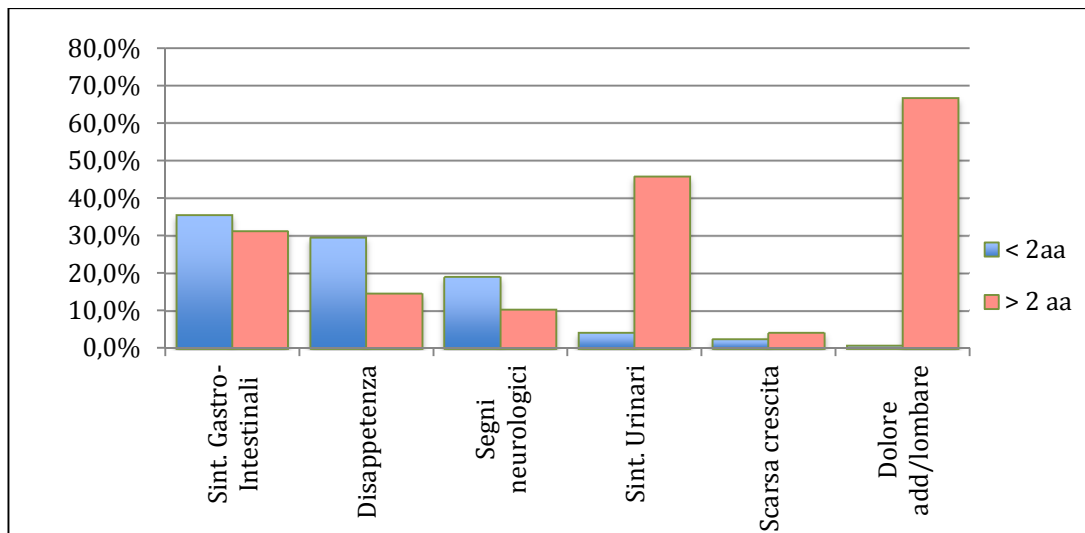


Figura 10. Sintomi più frequenti presentati in base all'età (0-2 anni; ≥ 2 anni)

Quadro Clinico, Quadro Ecografico e Multiresistenza

A seguito delle evidenze riscontrate in letteratura per cui una temperatura cutanea $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ è più frequentemente correlata ad un quadro di infezione delle alte vie urinarie, è stato suddiviso il campione di pazienti in due gruppi ed è stato quindi valutata l'eventuale correlazione tra febbre ($\text{TC} \geq 38.5^{\circ}\text{C}$) ed un quadro ecografico patologico. Nella popolazione studiata non è tuttavia risultata una correlazione tra queste due variabili ($p = 0.10$).

È stato inoltre analizzata la presenza di due o più sintomi associati febbre ($\text{TC} \geq 38.5^{\circ}\text{C}$) con il riscontro di un quadro ecografico patologico e con la multiresistenza all'urinocoltura. In entrambi i casi non è stata rilevata una differenza significativa. ($p = 0.2$) ($p = 0.8$).

5.2 Stick urinario

Lo stick sulle urine è stato eseguito su 159 pazienti (97.5%), in 4 pazienti tale indagine non è stata possibile per la difficoltà, data l'età, la concomitante presenza di diarrea e contaminazione con feci o contrazione della diuresi nel raccogliere urine analizzabili.

Nei 159 campioni utili, sono stati ottenuti i seguenti risultati (Tabella 5; Figura 11):

Tabella 5. Risultato dello stick urine in 159 pazienti con IVU

Stick Urine	GB	Nitriti	GB e Nitriti	Negativo
n°	75	3	60	21

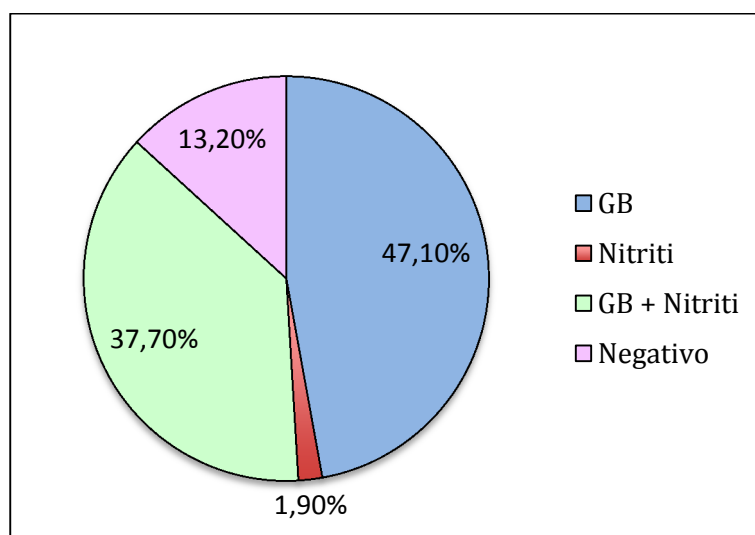


Figura 11. Risultati dello stick urinario in 159 bambini con IVU

Nei 21 casi in cui lo stick urinario è risultato negativo:

- in 5 casi era già stata eseguita una terapia antibiotica precedentemente al ricovero;

- negli altri 16 casi invece l'urinocoltura è sempre risultata positiva.

Nei 138 pazienti in cui lo stick è risultato positivo, con presenza di leucocituria o di nitriti o di entrambi, l'urinocoltura è risultata positiva in 108 casi (78.2%) e negativa in 27 pazienti, di cui in 20 casi dopo l'assunzione di almeno una dose di terapia antibiotica.

In 3 casi l'urinocoltura era stata annullata in laboratorio per la presenza di un campione non idoneo.

Stick urinario, Pielonefrite e Multiresistenza

Dato che è stata messa in relazione la presenza di nitriti allo stick urinario e l'eventuale resistenza ad alcune classi di antibiotici, è stata valutata la possibile correlazione tra uno stick urine francamente patologico (presenza di GB e Nitriti) con la presenza di pielonefrite o con una possibile multiresistenza all'urinocoltura.

Non si è osservata alcuna correlazione tra uno stick urine positivo e un quadro ecografico patologico ($p=0.2$); mentre è risultata evidente una correlazione statisticamente significativa con la multiresistenza antibiotica all'urinocoltura ($p=0.01$).

5.3 Esami ematochimici

Gli esami ematochimici sono stati eseguiti su 154 pazienti (94,5%).

5.3.1 Leucocitosi

La valutazione del numero dei GB nell'esame emocromocitometrico è stato effettuato su 150 bambini (97.0%)

Il valore medio nel campione totale è risultato $15.8 \pm 5.6 \times 10^3/\mu\text{L}$. Un valore patologico dei GB ($> 14.0 \times 10^3/\mu\text{L}$) è stato riscontrato in 101 bambini (67.3%). In questo sottogruppo il valore medio della conta leucocitaria è risultato di $18.8 \pm 4.2 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Dei 49 pazienti con un valore dei GB nel range di normalità, il 73.5% (36 pz) presentava un innalzamento al di sopra della normalità della Pcr, della PCT, o di entrambe (v. sotto).

Soltanto in 13 bambini (8.4%) tutti e tre i parametri presi in esame sono risultati nella norma.

5.3.2 Proteina c Reattiva (PcR)

L'esame della PcR è stato eseguito su 148 pazienti (90.8%); il valore medio è risultato di $10.8 \pm 10.7 \text{ mg/dL}$.

In diciotto pazienti (12.2%) il valore è risultato nella norma (v.n. $< 0.5 \text{ mg/dL}$) ($0.3 \pm 0.3 \text{ mg/dL}$), mentre in 130/148 (87.8%) tale parametro è stato riscontrato al di sopra dei livelli di normalità ($11.7 \pm 10.7 \text{ mg/dL}$).

I due gruppi di pazienti (con PcR positiva e negativa) sono poi stati analizzati valutando i seguenti parametri:

- valore dei GB,
- quadro clinico all'ingresso
- reperto ecografico.

Gruppo di pazienti con PcR negativa:

Il valore medio dei GB è risultato di $12.9 \pm 5.4 \times 10^3/\mu\text{L}$. In cinque pazienti (27.8%) è stato riscontrato un valore di GB al di sopra dei livelli di normalità.

In questo gruppo il quadro clinico all'ingresso era caratterizzato da una temperatura corporea media di $38.5 \pm 0.9^\circ\text{C}$. Il 63.1% (12 bambini) presentava sintomi associati; dei sei pazienti in cui è stata eseguita un'ecografia renale, tre (50%) presentavano lesioni evidenti.

Gruppo di pazienti con PcR positiva:

Nel gruppo con PcR $>0.5 \text{ mg/dL}$, è stato riscontrato un ampio range di valori (0.83–42.9 mg/dL), per cui sono stati suddivisi in due sottogruppi, individuando come valore di cut-off quello medio riscontrato nel campione con PcR positiva (11.7 mg/dL), con lo scopo di stabilire se il gruppo con livelli più elevati di PcR fosse associato più frequentemente ad un quadro clinico più grave e/o ad un quadro ecografico patologico rispetto a quello con livelli sierici di PcR alterati ma più bassi.

Il gruppo con valore di PcR compreso tra 0.50 e 11.7 mg/dL (Sottogruppo A) composto da 79 bambini (PcR media $4.5 \pm 2.8 \text{ mg/dL}$) presentava valore medio dei GB di $15.1 \pm 5.1 \times 10^3/\mu\text{L}$. Di questo gruppo il 7.6% dei bambini si presentava apiretico, mentre il restante 92.4% aveva valori medi di temperatura corporea di $38.8 \pm 0.8^\circ\text{C}$. Il 27.8% non presentava nessun sintomo di accompagnamento, del restante 72.2% sintomatico, il 52.6% si è presentato con un solo sintomo all'ingresso mentre il 47.4% con due o più sintomi. L'ecografia dei reni e delle vie urinarie, è stata eseguita su 61 pazienti di questo gruppo, risultando nella norma nel 68.8% (42/61) (Tabella 6).

Nel sottogruppo B, composto dai 51 pazienti con valori di PcR ≥ 11.7 mg/dL (PcR media 22.4 ± 9.0 mg/dL) (gruppo B), il valore medio di GB è risultato di $19.3 \pm 5.7 \times 10^3/\mu\text{L}$. All'ingresso solo un bambino si presentava apiretico, il 98% si presentava febbrile con una temperatura corporea media di $39.2 \pm 0.8^\circ\text{C}$. Quaranta di questi pazienti (78.4%) presentavano una sintomatologia di accompagnamento; 24 bambini 24/40 (60%) presentavano due o più sintomi (Tabella 6). I quadri più frequentemente riscontrati sono stati sintomi gastrointestinali (il 50% del campione), dolore addominale (37.5%) e disappetenza (32.5%).

Su 41 pazienti del sottogruppo B è stata eseguita l'ecografia dei reni e delle vie urinarie durante il ricovero, in 9 di questi (21.9%) è risultata nella norma, mentre nel restante campione (78.1%) è stato messo in evidenza un quadro patologico (Tabella 6), più frequentemente un'iperecogenicità renale o una dilatazione calico-pielica.

Tutti questi dati sono riassunti graficamente nelle figure 12-13-14.

Tabella 6- Valori di PcR in relazione al valore medio dei GB e al quadro clinico all'ingresso. Il campione con valori di PcR patologici, dato l'ampio range, è stato suddiviso in due sottogruppi (Sottogruppo A- Sottogruppo B) prendendo come valore cut-off della PcR quello medio dell'intero campione con PcR patologica (11.7 mg/dL).

		PcR (mg/dL)	GB ($1 \times 10^3/\mu\text{L}$)	TC ($^\circ\text{C}$)	SINTOMI	ECOGRAFIA PATOLOGICA
PcR negativa (< 0.5 mg/dL) (18 pz)		0.3 ± 0.3	12.9 ± 5.4	38.5 ± 0.9	63.1% (12 pz)	50% (3 pz)
PcR Positiva (≥ 0.5 mg/dL) (130 pz)	Sottogruppo A (79 pz) PcR (0.5 – 11.7)	4.5 ± 2.8	15.1 ± 5.1	38.8 ± 0.8	72.2% (57 pz)	68.8% (42 pz)
	Sottogruppo B (51 pz) PcR (≥ 11.7)	22.5 ± 9.0	19.3 ± 5.7	39.2 ± 0.8	78.4% (40 pz)	78.1% (32 pz)

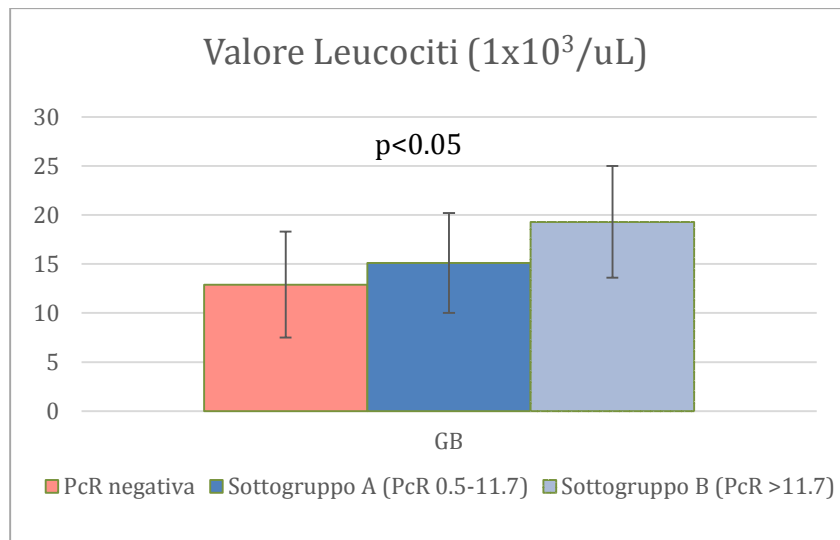


Figura 12. Valore dei GB in relazione alla PcR

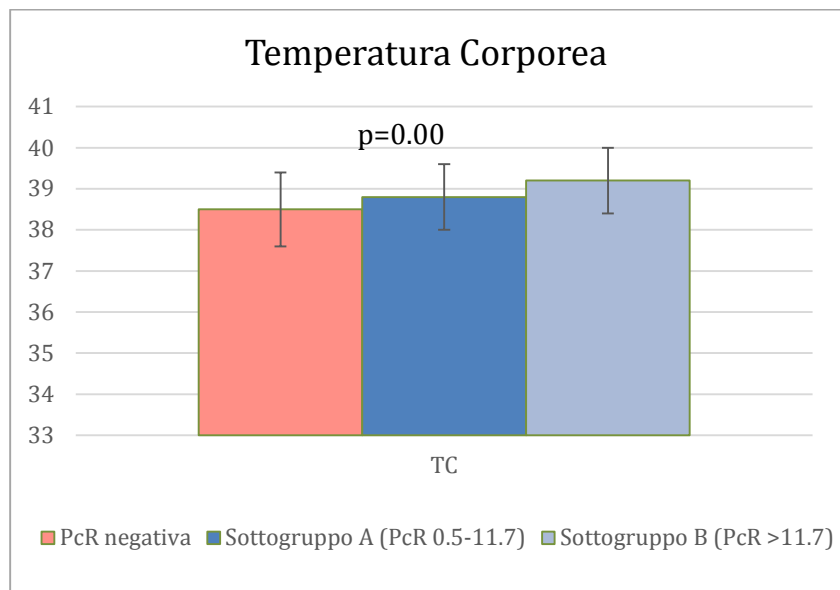


Figura 13. Temperatura corporea all'ingresso in relazione ai valori di PcR

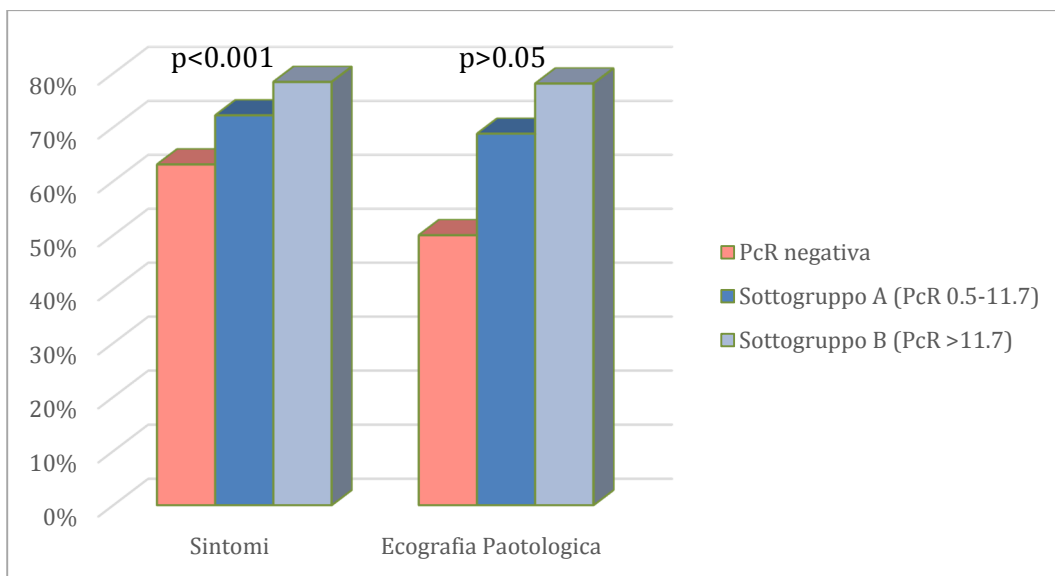


Figura 14. Quadro clinico all'ingresso (TC $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ associata ad almeno due sintomi) ed Ecografia patologica in relazione ai valori di PcR

PcR e GB

Analizzando i valori di PcR in relazione a quelli dei GB, è risultata una correlazione tra i due parametri, ma solo per valori di PcR patologici (> 0.50 mg/dL) ($p < 0.001$) (Fig. 15a e 15b).

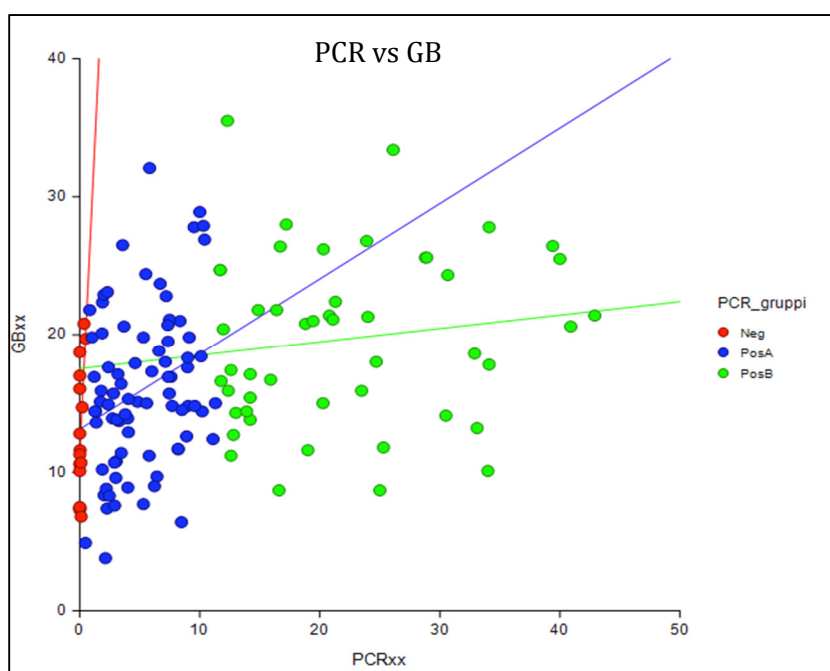


Figura 15a. Correlazione tra valori di GB e PcR dell'intero campione ($r = 0.41$)

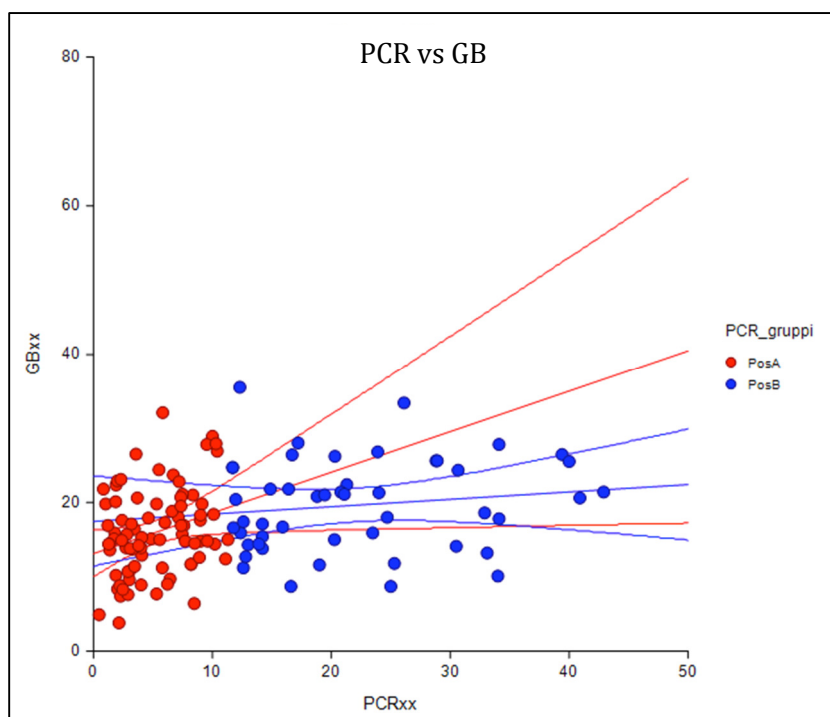


Figura 15b. Correlazione tra valori di GB e PcR > 0.50 mg/dL ($r=0.38$)

PcR e Quadro Clinico

Nei tre gruppi di pazienti suddivisi in base ai valori di PcR (PcR neg; PcR sottogruppo A; PcR sottogruppo B) è stata ricercata la possibile correlazione tra valori di PcR e il quadro clinico all'ingresso. I bambini con almeno due sintomi associati ad una febbre $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ presentavano valore più elevato di PcR ($p<0.001$), suggerendo una stretta correlazione tra sintomatologia all'ingresso e livelli patologici di PcR.

PcR, Quadro Ecografico e Multiresistenza

Sono stati messi in relazione i valori di PcR con il quadro ecografico; ma non è stata riscontrata la presenza di correlazione, indicando che questo parametro da solo

non sembra in grado di predire la presenza di un'anomalia renale ecograficamente rilevabile.

Valori aumentati di PCR non sono inoltre risultati predittivi di multiresistenza ($p=0.6$).

5.3.3 Procalcitonina (PCT):

Il marker PCT è stato analizzato in 98 pazienti (60% del totale) (v.n. < 0.50 ng/mL). È stato individuato come valore normale quello <0.50 ng/mL. Il valore medio della PCT è risultato di 7.3 ± 19.7 ng/mL.

Il 32.6% (32 pz), (valore medio 0.2 ± 0.1 ng/mL), ha presentato una PCT negativa, mentre il 67.3% (66 pz) aveva un valore di PCT patologico, media 13.0 ± 25.2 ng/mL; range 0.5 – 112.8.

Anche per questo parametro i due gruppi di pazienti sono stati esaminati questi in relazione a:

- valore medio dei GB,
- valore medio della PcR,
- quadro clinico all'ingresso,
- reperto ecografico.

Gruppo di pazienti con PCT negativa:

Questo gruppo presentava valori medi di GB pari a $15.4 \pm 5.9 \times 10^3/\mu\text{L}$, di PcR pari a 4.9 ± 5.8 mg/dL, e di temperatura corporea media all'ingresso di $38.8 \pm 0.9^\circ\text{C}$.

Il 90.1% (29 pz) presentava una sintomatologia associata al momento dell'ingresso, di cui il 55% (16 pz) mostrava due o più sintomi associati.

In 24 dei 32 pazienti è stata eseguita un'ecografia delle vie urinarie, e nel 54.1% (13 pz) è risultata nella norma. Il restante 45.9% ha mostrato reperti patologici, con quadri di idronefrosi e di pieloectasia nella maggior parte dei casi (72.7%).

Gruppo di pazienti con valore di PCT positiva:

In questo gruppo, il valore medio dei GB e della PcR sono risultati rispettivamente di $17.9 \pm 5.6 \times 10^3/\mu\text{L}$ e di $16.2 \pm 12.4 \text{ mg/dL}$. All'ingresso la temperatura corporea media è risultata di $39.1 \pm 0.8^\circ\text{C}$. Il 68.2% (45 pz) presentava inoltre sintomi associati, di cui il 62.2% (28 pz) presentava due o più sintomi.

In 52 pazienti è stata effettuata un'ecografia delle vie urinarie, risultata nella norma nel 26.9% (14/52), mentre Nel 73.1% (38/52) è risultata patologica con quadri di pielectasia e aumento del volume renale nella maggior parte dei casi.

Dato l'ampio range dei valori di PCT in questo secondo gruppo (range 0.5 – 112.8), anche in questo caso abbiamo suddiviso i pazienti in due sottogruppi, prendendo come cut-off il valore medio della PCT del campione con valori patologici (13.0 ng/mL).

Nel sottogruppo C con (valori di PCT compresi tra 0.5 e 13.0 ng/mL: media $2.5 \pm 2.9 \text{ ng/mL}$), sono stati compresi 52 pazienti. Il valore medio dei GB è risultato di $18.5 \pm 5.4 \times 10^3/\mu\text{L}$ e quello della PcR $14.6 \pm 11.6 \text{ mg/dL}$. La temperatura corporea media era di $39.2 \pm 0.8 \text{ mg/dL}$. Il 65.4% (34/52) presentava sintomi associati all'ingresso e 20 di questi pazienti (58.8%) avevano 2 o più sintomi (Tabella 7).

L'ecografia renale è stata effettuata in 40 bambini (76.9%), nel 53.8% del (28/52) sono state rilevate lesioni dell'apparato urinario. I reperti più frequentemente riscontrati sono stati pielectasia renale e aumento del volume renale (Tabella 7).

Nel sottogruppo D, cioè quello con valori di PCT ≥ 13.0 ng/mL, sono stati inclusi 14 pazienti (PCT media 41.6 ± 36.3 ng/mL). In questo sottogruppo, il valore medio dei GB è risultato $16.4 \pm 5.9 \times 10^3/\mu\text{L}$; quello della PcR di 20.3 ± 14.0 mg/dL. La temperatura corporea media è risultata di $39.0 \pm 0.8^\circ\text{C}$; il 78.6% (11/14) ha manifestato sintomi associati, di cui il 63.3% due o più sintomi. L'ecografia renale è stata eseguita su 12 pazienti e nel 91.7% dei casi (11/12) è risultata patologica (Tabella 7).

Nelle figure 16;17;18, sono riassunti i dati dell'analisi in base ai valori di PCT.

Tabella 7- Valori di PCT in relazione al valore medio dei GB, della PcR e al quadro clinico all'ingresso. Il campione con valori di PCT patologici, dato l'ampio range, è stato suddiviso in due sottogruppi (Gruppo C- Gruppo D) prendendo come valore cut-off della PCT quello di 13.0 mg/dL.

		PCT (ng/mL)	GB ($1 \times 10^3/\mu\text{L}$)	PcR (mg/dL)	TC ($^\circ\text{C}$)	SINTOMI	ECOGRAFIA PATOLOGICA
PCT negativa (32 pz) (< 0.5 ng/mL)		0.2 ± 0.1	15.4 ± 5.9	4.9 ± 5.8	38.8 ± 0.9	55% (16 pz)	45.9% (11 pz)
PCT Positiva (66 pz) (≥ 0.5 ng/mL)	Sottogruppo C (52 pz) PCT (0.5 – 13.0)	2.5 ± 2.9	18.5 ± 5.4	14.6 ± 11.6	39.2 ± 0.8	65.4% (34 pz)	70.0% (28 pz)
	Sottogruppo D (14 pz) PcR (≥ 13.0)	41.6 ± 36.3	16.4 ± 5.9	20.3 ± 14.0	39.0 ± 0.8	78.6% (11 pz)	91.7% (11 pz)

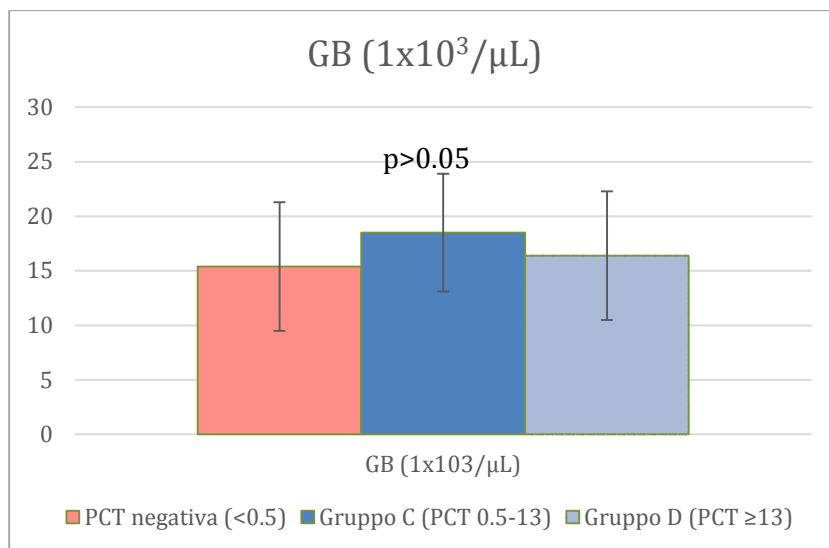


Figura 16. Valore dei GB in relazione alla PCT

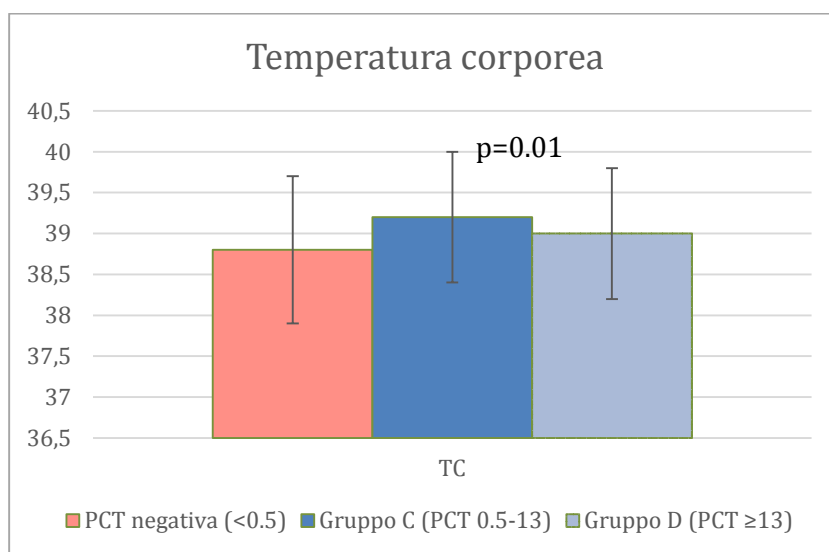


Figura 17. Temperatura corporea all'ingresso in relazione ai valori di PCT

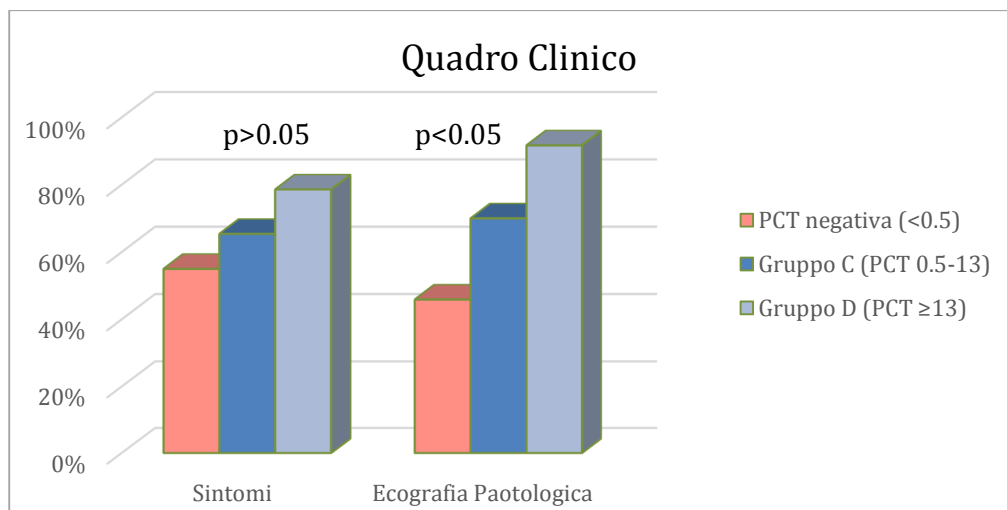


Figura 18. Quadro clinico all'ingresso ($TC \geq 38.5^{\circ}C$ associata ad almeno due sintomi) ed Ecografia patologica in relazione ai valori di PCT

PcR e PCT

Prendendo in esame i valori di questi due indici infiammatori, si è osservata la presenza di una stretta correlazione tra queste due variabili ($p < 0.001$) (Figura 19)

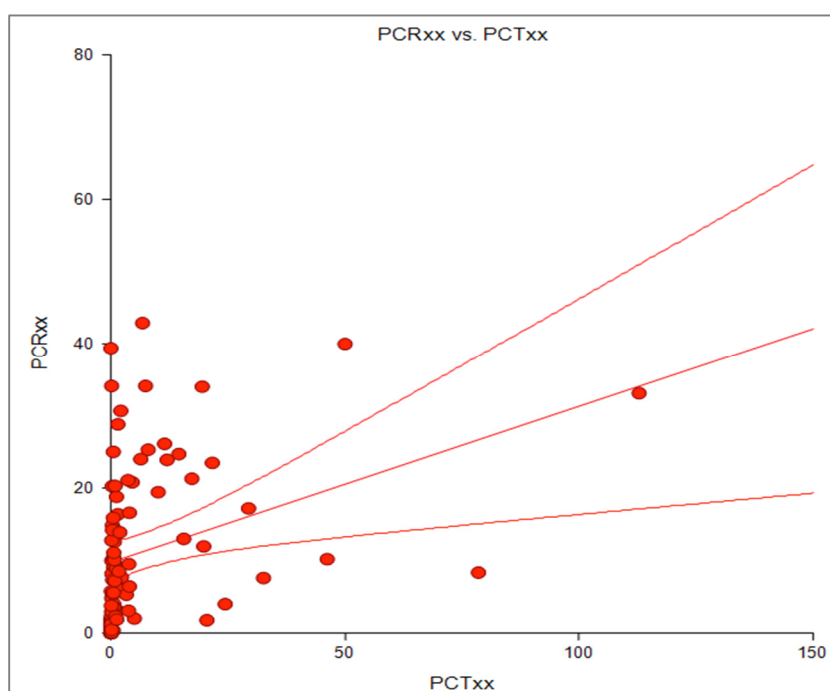


Figura 19. Correlazione tra valori di PcR e PCT nelle IVU ($r=0.36$)

PCT e GB

Per quanto riguarda i rapporti tra PCT e GB non è stata riscontrata alcuna correlazione statisticamente significativa tra questi due parametri ($p=0.6$).

PCT e Quadro Clinico

Analizzando i tre gruppi di pazienti suddivisi secondo i valori di PCT (PCT neg; PCT sottogruppo C; PCT sottogruppo D) in relazione al quadro clinico all'ingresso non è stata rilevata alcuna correlazione tra sintomi e PCT ($p=0.7$) ma esiste una correlazione tra valori maggiori di PCT e una temperatura corporea elevata ($\geq 38.5^{\circ}\text{C}$) ($p=0.01$).

PCT, Quadro Ecografico e Multiresistenza

Mettendo a confronto valori patologici di PCT con il quadro ecografico ne è risultata una correlazione tra queste due variabili soltanto per quei pazienti che presentavano valori di PCT ≥ 13 ng/mL (sottogruppo D) ($p < 0.05$). Suggerendo che per una PCT maggiore di tale valore sia più probabile un quadro ecografico patologico.

Valori aumentati di PCT non sono invece risultati associati a multiresistenza all'antibiogramma ($p=0.3$).

Esami ematochimici e multiresistenza

E' stato valutato se la presenza contemporanea di valori patologici dei tre parametri precedentemente esaminati (GB, Pcr e PCT) potessero essere predittivi di un'eventuale multiresistenza all'antibiogramma, rilevando correlazione statisticamente significativa ($p < 0.05$).

Non è stata trovata alcuna correlazione ($p=0.2$) tra i tre valori con un quadro ecografico alterato.

PcR e PCT e Quadro Ecografico

È stata inoltre valutata l'associazione di PcR e PCT patologiche e un quadro ecografico che ha messo in evidenza una significativa correlazione ($p<0.05$).

La presenza di entrambi questi parametri patologici non è però risultata correlata ad un'aumentata probabilità di riscontro di multiresistenza all'urinocoltura ($p=0.2$).

5.4 Ecografia dei reni e delle vie urinarie:

L'ecografia dei reni e delle vie urinarie è stata effettuata su 122 pazienti (74.8% del campione totale), risultando nella norma nel 36.9% (45/122), mentre almeno un reperto patologico è stato riscontrato nel restante 63.1% (77/122).

Mettendo a confronto l'esito dell'esame ecografico (negativo/positivo), con numero GB, PcR, PCT, quadro clinico, è stato valutato se un quadro ecografico patologico potesse predetto al momento del ricovero, in base a tali parametri. Nei pazienti in cui l'esame strumentale è risultato nella norma, il valore medio dei GB era di $14.4 \pm 5.4 \times 10^3/\mu\text{L}$, quello della PcR di $8.8 \pm 8.3 \text{ mg/dL}$ e quello della PCT di $1.1 \pm 1.3 \text{ ng/mL}$. In questi pazienti, il quadro clinico all'ingresso era caratterizzato da una temperatura corporea media di $38.9 \pm 0.7^\circ\text{C}$; il 73.3% dei bambini (33/45) presentava all'ingresso uno o più sintomi associati ad IVU.

Nel gruppo dei pazienti in cui l'esame ecografico era invece patologico il valore medio dei GB è risultato più elevato di $15.8 \pm 5.7 \times 10^3/\mu\text{L}$, così come la PcR ($10.9 \pm 10.8 \text{ mg/dL}$) e la PCT ($9.7 \pm 22.1 \text{ ng/mL}$). Anche per quanto riguarda la temperatura corporea media all'ingresso, non sono state rilevate differenze significative fra i due gruppi, mentre i pazienti con ecografia patologica sono risultati più frequentemente sintomatici. Tuttavia solo i valori di PCT sono risultati significativamente differenti fra i due gruppi (Tabella 8), per questo parametro era presente un certo overlap tra i due gruppi come si rileva da tabella 8.

Tabella 8- Quadro ecografico in relazione con i parametri ematochimici e il quadro clinico all'ingresso

* $p < 0.05$

	n° pazienti	GB ($1 \times 10^3/\mu\text{L}$)	PcR (mg/dL)	PCT (ng/mL)	TC (°C)	SINTOMI
Ecografia nella norma	45	14.4 ± 5.4	8.8 ± 8.3	1.1 ± 1.3	38.9 ± 0.7	26.7 % (12 pz)
Ecografia patologica	77	15.8 ± 5.7	10.9 ± 10.8	$9.7 \pm 22.1^*$	38.9 ± 0.8	80% (60 pz)

Quadro Ecografico e Multiresistenza

Non è stata trovata alcuna correlazione tra presenza di un quadro ecografico francamente patologico e il riscontro di multiresistenza all'esame dell'urinocoltura ($p=1$).

5.5 Analisi dell'urinocoltura:

Nelle urinocolture effettuate nel campione di 163 pazienti sono stati valutati i seguenti parametri:

1. il microorganismo più frequentemente coinvolto nelle IVU
2. la presenza di più batteri in un singolo campione
3. il numero totale di campioni con mono- o pluri-resistenze batteriche
4. l'eventuale aumento delle resistenze batteriche nel corso dei 6 anni, oggetto della tesi
5. gli antibiotici più frequentemente coinvolti nel meccanismo di resistenza
6. gli antibiotici più frequentemente coinvolti nel meccanismo di multiresistenza

5.5.1 Urinocoltura: Anno 2011

Nel 2011, sono stati ricoverati 29 bambini con diagnosi di IVU. L'urinocoltura è risultata negativa in 9/29 (31.0%), in 6 di questi casi la raccolta delle urine era stata effettuata dopo l'assunzione di una terapia antibiotica.

Nei pazienti in cui è risultata positiva (20/29) i batteri coinvolti sono risultati (Tabella 9):

- *E. coli* (95.0%)
- *Salmonella B* (3.3%)
- *Altri* (1.7%)

In 1 campione sono stati riscontrati due o più microorganismi; tale risultato è stato considerato effetto di una contaminazione.

Per quanto riguarda la resistenza agli antibiotici in corso di IV:

- In 11/20 casi (55.0%) il microorganismo è risultato sensibile a tutti gli antibiotici testati.
- In 8/20 casi (40%), il batterio è risultato resistente, nel 37.5% (3/8 casi) è stata rilevata una resistenza a 2 o più antibiotici.

Gli antibiotici che hanno presentato maggior resistenza microbica sono riportati in tabella 10.

5.5.2 Urinocoltura: Anno 2012

Nel 2012, sono stati ricoverati 32 bambini con diagnosi di IVU. In 3/32 (9.4%), l'urinocoltura è risultata negativa, ma in tutti questi casi la raccolta delle urine era stata effettuata dopo l'assunzione di almeno una dose di terapia antibiotica. Nei restanti bambini, in cui è risultata positiva (90.6%; 29/32), i batteri più frequentemente coinvolti sono risultati (Tabella 9):

- *E. coli* (79.3%)
- *Enterococcus faecalis* (10.3%)
- *Klebsiella pneumoniae* (6.9%)
- Altri (3.5%)

In 5 campioni (17.2%) sono stati riscontrati due o più microorganismi: tali campioni sono stati considerati quindi contaminati.

Per quanto riguarda la resistenza agli antibiotici in corso di IVU, è stata rilevata la seguente situazione:

- In 10 casi (34.5%) il microorganismo è risultato sensibile a tutti gli antibiotici testati.
- In 19 casi (65.5%) il batterio era resistente a 2 o più antibiotici nel 78.9% (15/19).

Gli antibiotici che hanno presentato maggior resistenza microbica sono riassunti in tabella 10.

5.5.3 Urinocoltura: Anno 2013

Nel 2013, sono stati ricoverati 19 bambini con diagnosi di IVU. In 2 casi (10.5%) è risultata negativa, in un caso era stata effettuata dopo l'assunzione di una terapia antibiotica. In 2 pazienti l'urinocoltura non è stata effettuata per inadeguatezza del campione.

Nei 15 casi in cui l'urinocoltura è risultata positiva i batteri più frequentemente coinvolti sono risultati (Tabella 9):

- *E. coli* (86.7%) (in 3 casi con una carica microbica $< 10^5$ u.f.c/mL);
- *Enterococcus faecalis* (1 caso)
- *Klebsiella oxytoca* (1 caso)

In 1 campione è stata riscontrata la presenza di due o più microorganismi, supponendo quindi una contaminazione.

Per quanto riguarda la resistenza agli antibiotici in corso di IVU:

- In 9 casi (60%) il microorganismo è risultato sensibile a tutti gli antibiotici testati.
- In 6 casi (40%) è risultato resistente a 2 o più antibiotici, e quindi tutti multiresistenti.

Gli antibiotici che hanno presentato maggior resistenza microbica sono riassunti in tabella 10.

5.5.4 Urinocoltura: Anno 2014

Nel corso dell'anno 2014, sono stati ricoverati 33 bambini affetti da IVU. In 6 casi (18.2%), l'urinocoltura è risultata negativa; in 4 di questi casi l'esame era stato effettuato dopo l'assunzione di terapia antibiotica.

Nei 27 casi in cui l'urinocoltura è risultata positiva i batteri più frequentemente coinvolti sono risultati (Tabella 9):

- *E. coli* (81.5%), (in 1 caso con una carica microbica $< 10^5$ u.f.c/mL);
- *Enterococcus faecalis* (3 caso, 11.1%)
- *Klebsiella pneumoniae* (1 caso 3.7%)
- *Proteus mirabilis* (1 caso 3.7%)

In 3 campioni è stata riscontrata la presenza di due o più microorganismi, sono stati considerati oggetto di una contaminazione.

Per quanto riguarda la resistenza agli antibiotici in corso di IVU:

- In 14 casi (51.8%) il microorganismo è risultato sensibile a tutti gli antibiotici testati.

- In 13 casi (48.2%) il batterio è risultato resistente, in 6 pazienti ad 1 solo antibiotico e in 7 abbiamo a 2 o più antibiotici (quindi il 53.8% è risultato multiresistente).

Gli antibiotici che hanno presentato la maggior resistenza microbica sono riportati in tabella 10.

5.5.5 Urinocoltura: Anno 2015

Nell'anno 2015, sono stati ricoverati 39 bambini con IVU. In 9 casi (23.1%) l'urinocoltura è risultata negativa, in 8 casi la raccolta del campione era stata effettuata dopo l'assunzione di almeno una dose di terapia antibiotica.

Nei 29 bambini in cui l'urinocoltura è risultata positiva, i batteri più frequentemente coinvolti sono risultati essere (Tabella 9):

- *E. coli* (72.4%)
- *Klebsiella pneumoniae* (10.3%)
- *Proteus mirabilis* (6.9%)
- *Staphylococcus* spp. (6.9%)
- *Enterococcus cloacae* (1 caso, 3.4%)

In 3 campioni è stata riscontrata la presenza di due o più microorganismi, tali campioni sono stati considerati contaminati.

Per quanto riguarda la resistenza agli antibiotici in corso di IVU:

- in 7 casi (24.1%) il microorganismo è risultato sensibile a tutti gli antibiotici testati;

- in 22 casi (75.9%) il batterio è risultato resistente, di cui in 8 pazienti ad 1 solo antibiotico e in 14 a 2 o più antibiotici (quindi il 63.6% il campione è risultato multiresistente).

Gli antibiotici che hanno presentato la maggior resistenza microbica sono riassunti in tabella 10.

5.5.6 Urinocoltura: Anno 2016

Nel corrente anno sono stati ricoverati per IVU 9 bambini (mesi gennaio-maggio).

In 2 casi è l'urinocoltura è risultata negativa, ed in entrambi era stata effettuata dopo l'inizio della terapia antibiotica.

Nei 7 casi in cui l'urinocoltura è risultata positiva, i batteri più frequentemente coinvolti sono risultati (Tabella 9):

- *E. coli* (71.4%)
- *Klebsiella pneumoniae* (14.3%)
- *Proteus mirabilis* (14.3%)

In nessun campione è stata riscontrata la presenza di due o più microorganismi.

Per quanto riguarda la resistenza agli antibiotici è risultata:

- in 2 casi (28.5%) il microorganismo è risultato sensibile a tutti gli antibiotici testati;
- in 5 casi (71.4%) il batterio è risultato multiresistente nel 100% del campione.

Gli antibiotici che hanno presentato maggior resistenza microbica sono riassunti in tabella 10.

Tabella 9. I batteri più frequentemente causa di IVU: anni 2011-2016

* dati in % delle urinocolture positive/anno

Microorganismo	Anni*					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
E. coli	95.0	79.3	86.7	81.5	72.4	71.4
Enterococcus faecalis		10.3	6.7	11.1		
Klebsiella pneumoniae		6.9		3.7	10.3	14.3
Klebsiella oxytoca			6.7			
Proteus mirabilis				3.7	6.9	14.3
Staphylococcus spp.					6.9	
Enterococcus cloacae					3.4	

Tabella 10. Resistenze antibiotiche in corso di IVU: anni 2011 – 2016

* dati in % del campione delle urinocolture positive/anno

Antibiotico	Anni*					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Ampicillina	30	58.6	40	33.3	55.2	42.8
Amoxicillina/Clavulanato	15	31.0	13.3	3.7	24.1	28.6
Ampicillina/Sulbactam	10		40	7.4		
Clindamicina		6.9		7.4	3.4	
Eritromicina		6.9	6.7	7.4	3.4	
Gentamicina		6.9	6.7	3.7	3.4	13.4
Levofloxacin		6.9	13.3	7.4		13.4
Piperacillina	5	20.7				
Cefuroxime		13.8	6.7		6.9	13.4
Fosfomicina			13.3		6.9	
Cefotaxime			6.7	3.7	6.9	13.4
Ciprofloxacina			6.7		3.4	13.4
Moxifloxacina		6.9	6.7	7.4		
Tobramicina		6.9				
Trimetoprim-Sulfametossazolo	15	27.6	6.7	3.7	24.1	13.4
Streptomicina			6.7			
Nitrofurantoina				3.7	3.4	13.4
Piperacillina/Tazobactam					6.9	13.4

Il numero di urinocolture con resistenza batterica sono riportate complessivamente in figura 20. Dividendo i bambini per fascia di età (< 2 anni o > 2 anni), non sono risultate differenze statisticamente significative per le resistenze alle principali classi di antibiotici (Fig. 21).

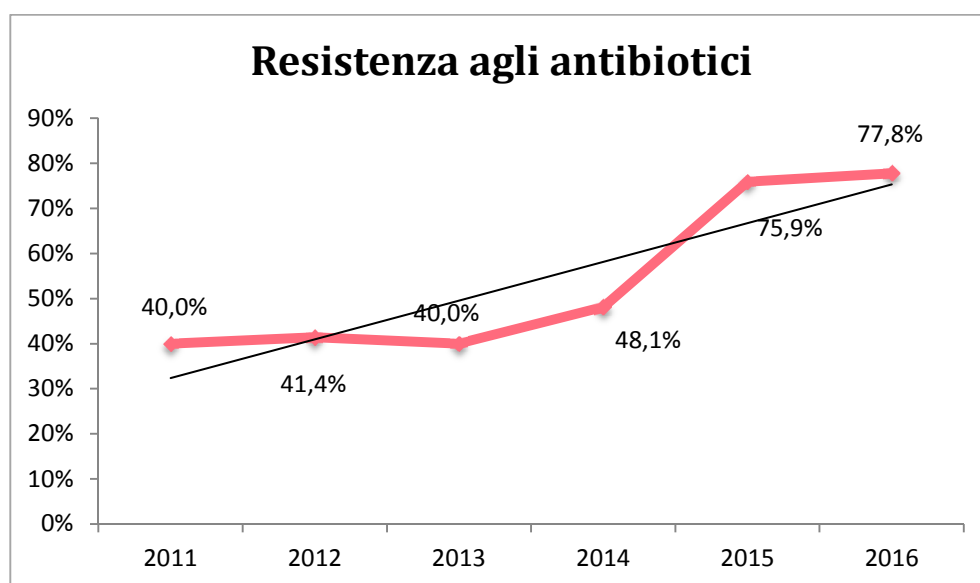


Figura 20. Andamento della resistenza riscontrata all'urinocoltura (anni 2011-2016).

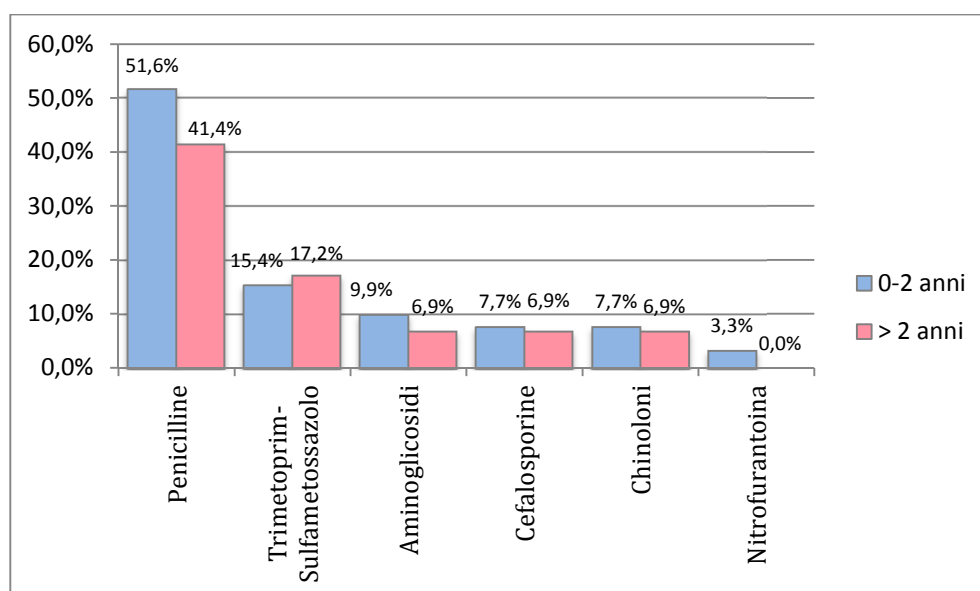


Figura 21. Resistenze in corso di IVU in base alla classe antibiotica e per fascia d'età (0-2 anni; ≥ 2 anni).

5.6 Multiresistenza

Nel totale dei 6 anni presi in esame, è stata individuata una multiresistenza, cioè una resistenza a due o più antibiotici. L'andamento della multiresistenza in 50/urinocolture positive (39.4%) per ogni singolo anno è riassunto in Figura 22.

	2011	2012	2013	2014	2015	2016
%	10,3	38,4	31,6	21,2	35,9	55,6

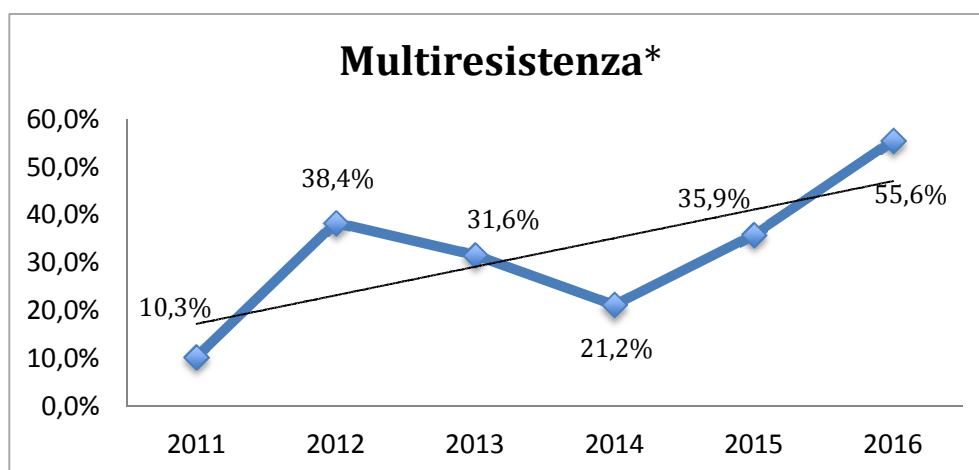


Figura 22. Andamento della multiresistenza nel corso dei sei anni analizzati
* % di campioni multiresistenti/anno sul totale delle urinocolture positive.

Gli antibiotici maggiormente coinvolti nella multiresistenza batterica sono riportati in figura 23.

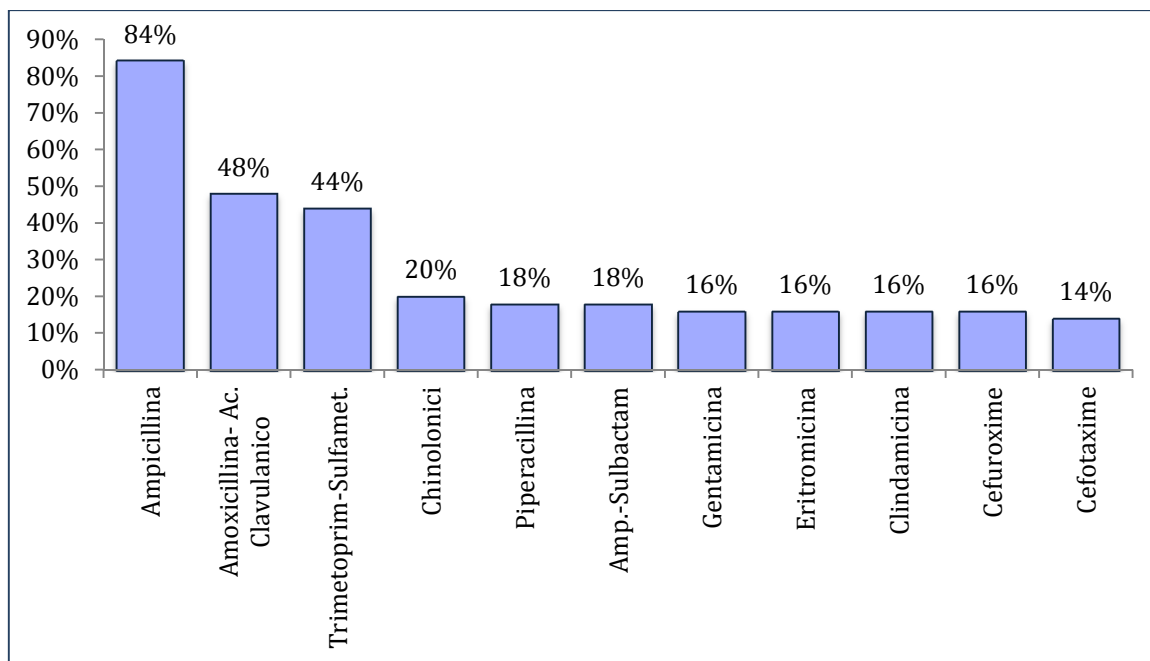


Figura 23. Antibiotici maggiormente implicati nella multiresistenza

5.7 Terapia antibiotica

Per quanto riguarda la terapia antibiotica, 95/162 bambini (58.6%) sono stati trattati come prima scelta con terapia orale; secondo le linee guida [2] in 69/95 pazienti (72.6%) è stata utilizzata l'amoxicillina e acido clavulanico; tale trattamento non si dimostrato clinicamente efficace nel 18.8% dei casi, nei quali è stata necessaria la sostituzione della terapia orale con una per via parenterale.

In 67/162 bambini (41.3%) la terapia di prima scelta è stata quella parenterale, nell'80.6% intrapresa con ceftriaxone. In questo ultimo gruppo di pazienti nel 18.5% la terapia è risultata inefficace ed è stata sostituita con una seconda terapia endovenosa.

In totale 35/162 (21.6%) la terapia empirica, intrapresa prima dei risultati dell'antibiogramma, è risultata inefficace.

6 Discussione

Le infezioni delle vie urinarie rappresentano un'importante patologia infettiva in età pediatrica. La loro rilevanza è dovuta in particolare all'elevata incidenza di tale patologia, che rappresenta la più frequente infezione batterica in questa fascia d'età [2], e alle complicanze, siano esse acute, come il rischio di sepsi soprattutto nel lattante, che a lungo termine. Queste ultime sono rappresentate soprattutto dall'esito in una cicatrice renale (*scar*) con conseguente compromissione della funzionalità dell'organo stesso [4].

In questa tesi i ricoveri per IVU hanno rappresentato il 3.5% dei ricoveri totali negli anni dal 2011 al maggio del 2016, cioè una percentuale inferiore rispetto ai dati ritrovati in letteratura. Questo rilievo può essere probabilmente imputabile al fatto che in Italia il pediatra di famiglia tratta i casi non complicati con terapie domiciliari, e tali pazienti non giungono quindi all'osservazione. Della U.O. Pediatrica. Un altro fattore che probabilmente determina una ridotta percentuale dei ricoveri per IVU nei bambini è la presenza, nell'azienda Ospedaliera Universitaria Pisana, di un Ambulatorio di Pronto Soccorso Pediatrico, che filtra i pazienti, disponendo il ricovero solo in casi in cui il quadro clinico è complicato e/o l'IVU recidivante.

In questa tesi, non sono stati inoltre inclusi quei bambini che hanno richiesto solo un'Osservazione Breve Intensiva, quindi con un'assistenza inferiore alle 24 ore.

Analizzando il quadro clinico dei pazienti ricoverati con diagnosi di IVU, a differenza di molti studi che mettono in relazione una febbre elevata ($\geq 38.5^{\circ}\text{C}$) con

un quadro di pielonefrite [4], non è stata riscontrata una correlazione tra la presenza di questo sintomo ed un quadro patologico renale ecograficamente evidente. Tale relazione non è risultata presente neanche nel caso in cui ad una temperatura cutanea elevata siano associati almeno due sintomi all'ingresso. Questi risultati suggeriscono quindi che la sola sintomatologia clinica non sia in grado di selezionare i bambini con IVU.

Dato che nelle IVU la terapia iniziale è spesso empirica e in attesa dei risultati dell'urinocoltura, si basa oltre al sospetto clinico, sull'analisi dello stick urinario che è un metodo immediato e non invasivo per suggerire o meno l'inizio di un trattamento [23, 24]. In questo campione è stata riscontrata una discordanza tra il risultato dello stick urinario e quello dell'urinocoltura in 43 casi su 159 (27%) (Fig. 24). In particolare 16 bambini hanno avuto uno stick urinario negativo a fronte invece di un'urinocoltura positiva. Sebbene non sia chiara l'origine di tale discordanza, ciò potrebbe essere dovuto a una troppo precoce raccolta delle urine per la corretta esecuzione dello stick e poi alla raccolta di un campione successivo per l'analisi dell'urinocoltura. Tale ipotesi dovrà essere valutata in eventuali studi prospettici futuri.

Al contrario, in 27 pazienti, in presenza di uno stick positivo, l'urinocoltura è poi risultata negativa. In 20 di questi casi la raccolta di urine è stata effettuata dopo l'assunzione di almeno una dose di terapia antibiotica. Questo risultato sembra indicare che un'iniziale, anche breve, terapia antibiotica, spesso eseguita a domicilio, può non modificare i risultati dello stick mentre è in grado di inibire la crescita batterica nell'esecuzione dell'urinocoltura. I restanti 7 casi, con stick urine positivo e urinocoltura negativa, nonostante l'assenza di terapia antibiotica, è probabile che possano essere riconducibili ad una sindrome uretrale [3] (Fig. 24).

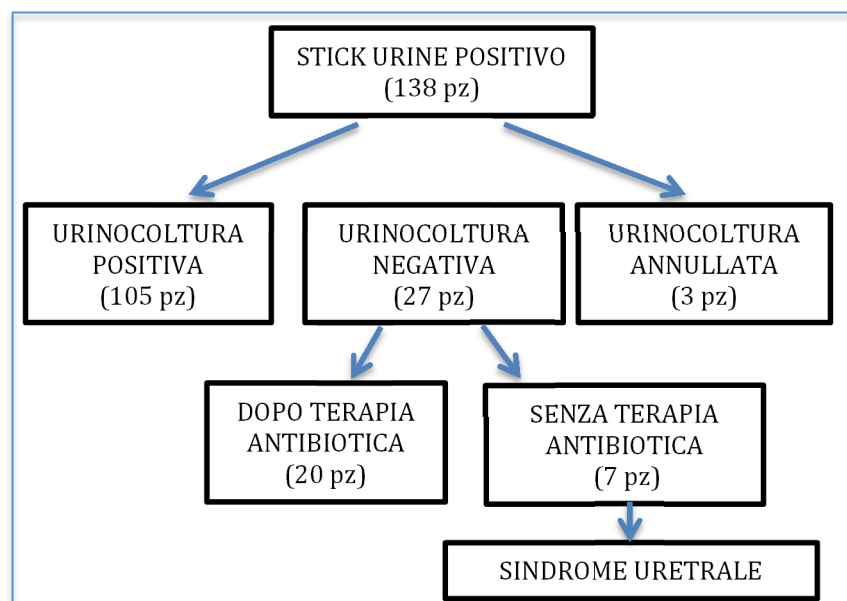


Figura 24. Sintesi dei risultati dell'urinocoltura nei 138 bambini con IVU con positività dei markers allo stick urinario.

In letteratura alcuni autori hanno messo in evidenza come la presenza di nitriti allo stick urinario possa essere correlata a una resistenza ad alcune classi di antibiotici [29-32]. I risultati di questa confermano un rapporto tra il rilievo di uno stick urine francamente patologico (presenza di GB e nitriti) e un'eventuale multiresistenza all'antibiogramma. Dunque nei bambini con stick urinario che presenta la positività per entrambi questi marker dovrebbe essere utilizzato come prima scelta un antibiotico raramente coinvolto nei meccanismi di multiresistenza.

Non è stata invece trovata una relazione tra stick urine patologico e presenza di un quadro ecografico patologico.

Secondo dati della letteratura l'esecuzione degli esami ematochimici non è discriminante per identificare un quadro di IVU delle basse vie da una forma complicata e solo la PCT sarebbe l'unico marcatore sensibile e specifico, sia per localizzare una pielonefrite sia per stabilirne l'estensione [33]. A tale scopo in questa

tesi sono stati presi in esame tre parametri: il valore dei globuli bianchi, quello della Pcr e quello della PCT.

La Pcr che è un marker ampiamente utilizzato nella valutazione di infiammazioni acute o croniche e nelle infezioni [120], viene prodotta dagli epatociti sotto l'influenza di citochine come interleuchina-6 e il fattore di necrosi tumorale- α [121]. È ritenuta molto sensibile nella diagnosi d'infezione batterica, anche se presenta una certa latenza nel suo incremento, inizia infatti, ad aumentare dopo 6-12 ore dall'insorgenza della febbre. La sua accuratezza è pertanto elevata se la febbre dura da più di 12 ore e meno accurata se la febbre dura da meno di 12 ore [122] (Fig. 25).

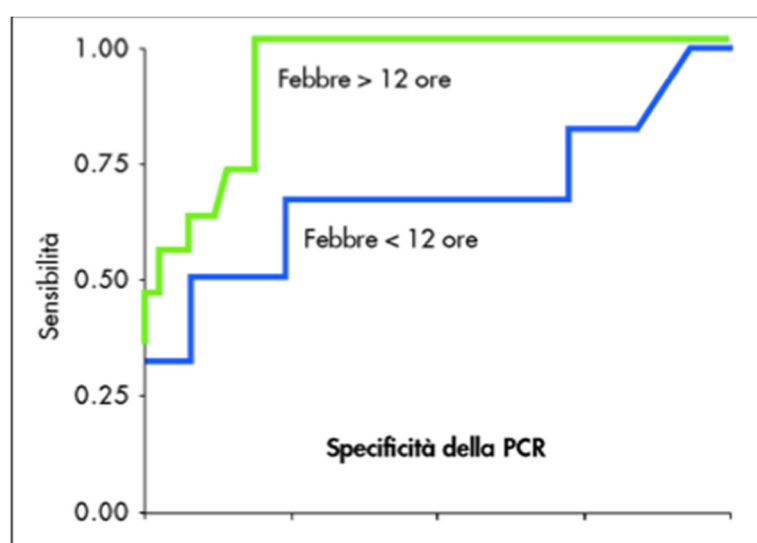


Figura 25- Specificità e sensibilità della Pcr in base alle ore trascorse dall'inizio della febbre.

In vari studi sono stati indagati i livelli di Pcr nelle IVU. Ad esempio la Boston Community Health Survey (BACH) ha rilevato un significativo rapporto tra basse infezioni delle basse vie urinarie ed elevati valori di Pcr in entrambi i sessi [123].

Anche in un recente studio, i livelli sierici di Pcr riscontrati nei pazienti con IVU erano significativamente maggiori rispetto al gruppo di controllo [124].

In questo campione valori patologici di Pcr sono risultati associati ad un quadro clinico maggiormente impegnativo all'ingresso, ma non è stata trovata una correlazione con la presenza di un quadro ecografico alterato o con una multiresistenza all'antibiogramma, suggerendo che l'elevazione di tale parametro non è predittivo di tali situazioni.

La Procalcitonina (PCT), cioè il proormone della calcitonina, aumenta significativamente in conseguenza delle infezioni batteriche, mentre i suoi livelli ematici non sono modificati nelle infezioni virali e nelle flogosi non infettive. La PCT ha valore predittivo positivo del 90%, contro il 44-83% della Pcr ed esiste una correlazione diretta fra il grado di positività della PCT e la gravità della lesione. Presenta inoltre una migliore accuratezza diagnostica nel rilevare una grave infezione batterica nei bambini febbrili, seguita poi dalla conta dei leucociti e dal valore della Pcr [125]. Rispetto alla Pcr, la PCT aumenta in maniera molto consistente sin dalle prime ore dall'insorgenza della febbre: la sua determinazione può pertanto essere utile soprattutto nella valutazione di soggetti con iperpiressia di recentissima insorgenza. L'accuratezza della PCT rispetto alla Pcr è infatti più elevata soprattutto nelle prime 8 ore dall'insorgenza della febbre [126] (Fig. 26).

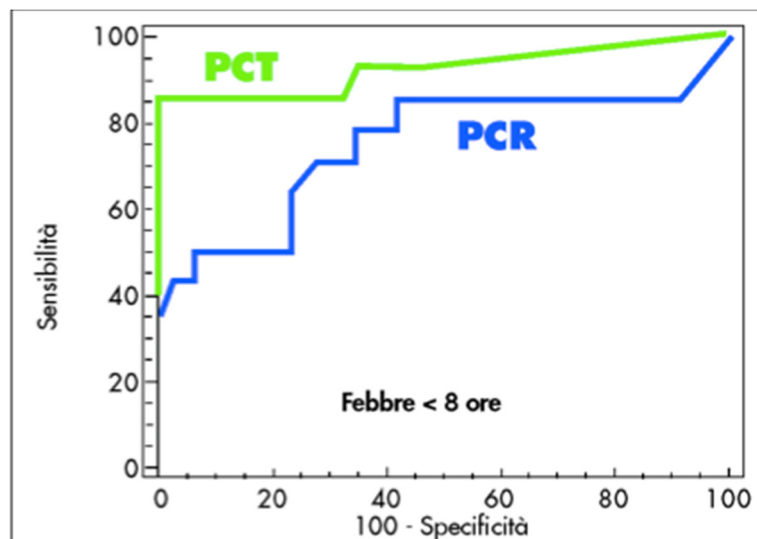


Figura 26- Maggiore sensibilità della PCT rispetto alla PcR quando la febbre dura da meno di 8 ore.

In accordo con i dati della letteratura anche in questa tesi è stata riscontrata una stretta associazione tra elevati livelli di PCT e un'alterazione ecograficamente rilevabile dell'apparato nefro-urinario [126, 127]. In particolare tale rilievo è stato messo in evidenza nel gruppo di pazienti che presentava valori più elevati di tale parametro (sottogruppo D). Al contrario valori elevati di PCT non sono risultati associati ad una maggior frequenza di multiresistenza, né con la gravità del quadro clinico. Tali risultati suggeriscono che i bambini con valori elevati di PCT all'ingresso sono più probabilmente affetti da IVU delle alte vie strumentalmente rilevabile che richiedono quindi un approccio terapeutico più rapido e più aggressivo.

I valori di PCT e PcR nel campione totale sono risultati strettamente correlati ($p < 0.001$). L'associazione di questi due biomarcatori, quando patologici, sono risultati predittivi di un quadro ecografico patologico. Tuttavia, non sono risultati in grado di individuare un'associazione con una possibile multiresistenza.

È stata invece riscontrata una maggior frequenza di multiresistenza, statisticamente significativa, in quei bambini in cui tutti e tre i parametri ematici presi in considerazione (GB; PcR; PCT) risultavano al di sopra dei valori di normalità. Questo dato potrebbe suggerire l'esecuzione di un'ecografia in epoca precoce, per rilevare l'entità del danno parenchimale, a differenza di ciò che indicano le linee guida in cui si suggerisce di eseguire l'esame ecografico ad almeno un mese di distanza dall'evento infettivo [2, 39].

Nel 74.8% di questo campione l'ecografia dei reni e delle vie urinarie è stata eseguita già nel corso del ricovero, tuttavia anche per questo parametro non è stato possibile rilevare una relazione tra quadro ecografico patologico ed un'eventuale multiresistenza.

Nelle infezioni del tratto urinario la terapia antibiotica viene generalmente iniziata empiricamente sulla base della sintomatologia clinica e dei risultati dell'urostick, come precedentemente esposto, in quanto un trattamento precoce diminuisce il tasso di morbilità [107]. Per cui un efficace trattamento empirico di prima linea la resistenza batterica nella popolazione in oggetto non deve superare il 20% [128]. La corretta scelta del farmaco antimicrobico empirico richiede pertanto una adeguata conoscenza dei sierotipo batterici tipicamente coinvolti nelle infezioni del tratto urinario e una conoscenza dei modelli di resistenza locali [105-107]. Molti studi hanno dimostrato una sempre più crescente resistenza dei ceppi di E. coli verso i β -lattamici [60, 105, 106, 109, 112-114]. Anche in questa tesi E. coli è risultato il principale responsabile delle IVU, essendo stato individuato nel 81.4% del campione totale in esame.

Nel corso dei sei anni presi in esame, solo nel 41.7% dei casi il microorganismo responsabile di IVU risultava sensibile a tutti gli antibiotici testati, con un'evidente

tendenza al calo di tale dato negli ultimi tre anni analizzati (Fig. 27a). Un'analoga tendenza è stata rilevata per E. coli (Fig. 27b).

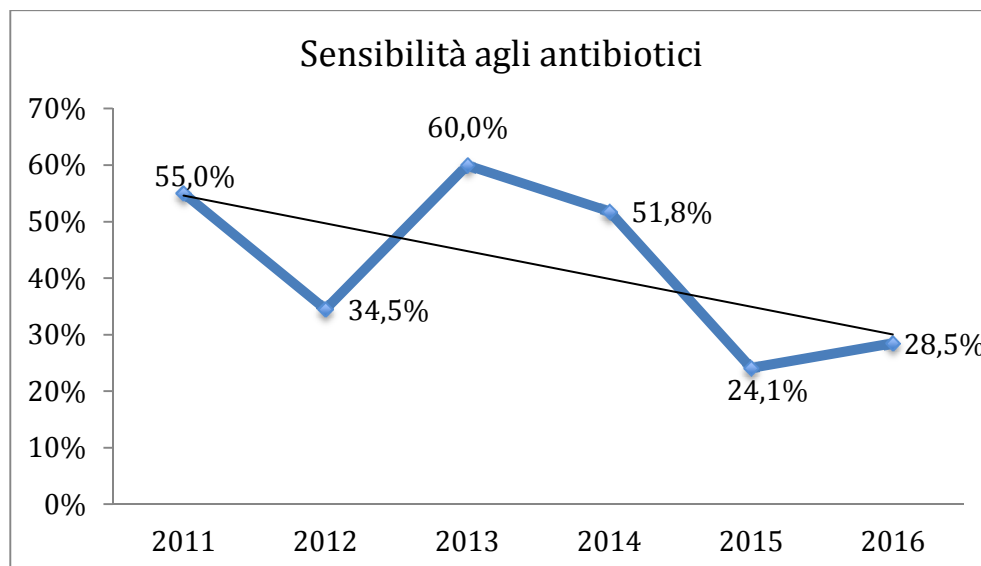


Figura 27a. Andamento della sensibilità agli antibiotici nel corso degli anni 2011-2016 (ultimo anno, mesi Gen-Mag)

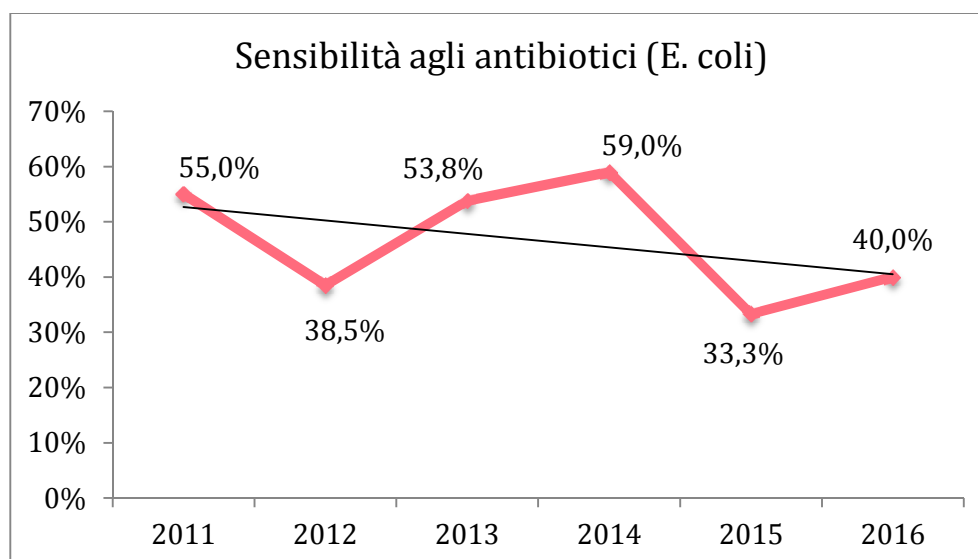


Figura 27b. Andamento della sensibilità agli antibiotici per E. coli, nel corso degli anni 2011-2016 (ultimo anno, mesi Gen-Mag)

Dato l'ampio range dell'età dei pazienti nel campione, l'esame delle resistenze alle varie classi di antibiotici è stato effettuato anche in rapporto all'età prendendo in considerazione la fascia da 0 a 2 anni (67.5% del campione) e quella maggiore di 2 anni (32.5%), rilevando un comportamento omologo tra le due fasce d'età.

Gli antibiotici verso cui si è presentata una maggiore resistenza, in accordo con quanto riportato in letteratura, sono stati i β -lattamici (Fig. 21), in particolare verso l'ampicillina (Fig. 28), mentre per le cefalosporine il fenomeno sembra riguardare soprattutto i bambini più piccoli (Fig. 29) ad esempio la resistenza verso l'ampicillina è risultata presente nel 42,5%. La resistenza verso le cefalosporine di II e III generazione è risultata meno rilevante ma sembra comunque in aumento (Fig. 29).

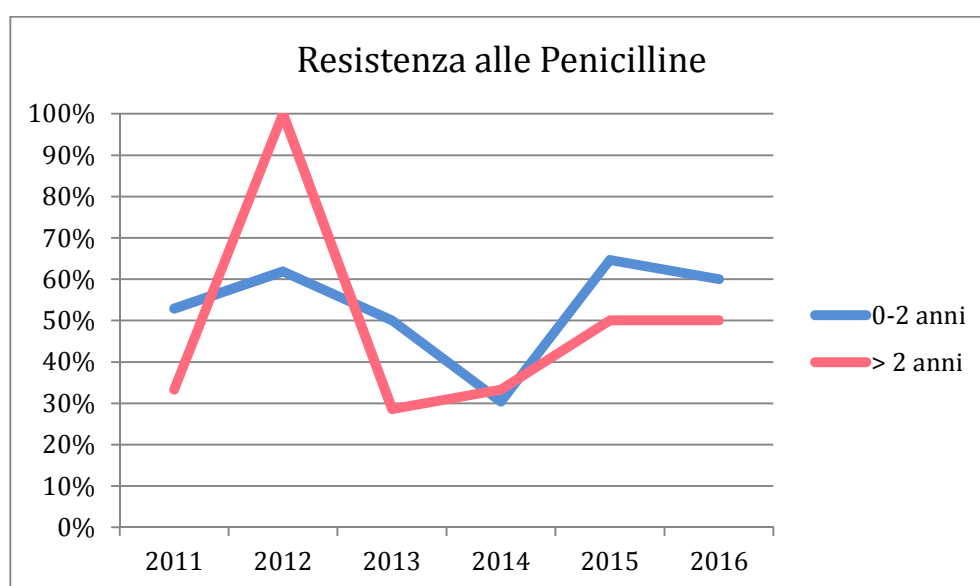


Figura 28. Resistenza alle penicilline in corso di IVU: anni 2011 – 2016 per fascia d'età.

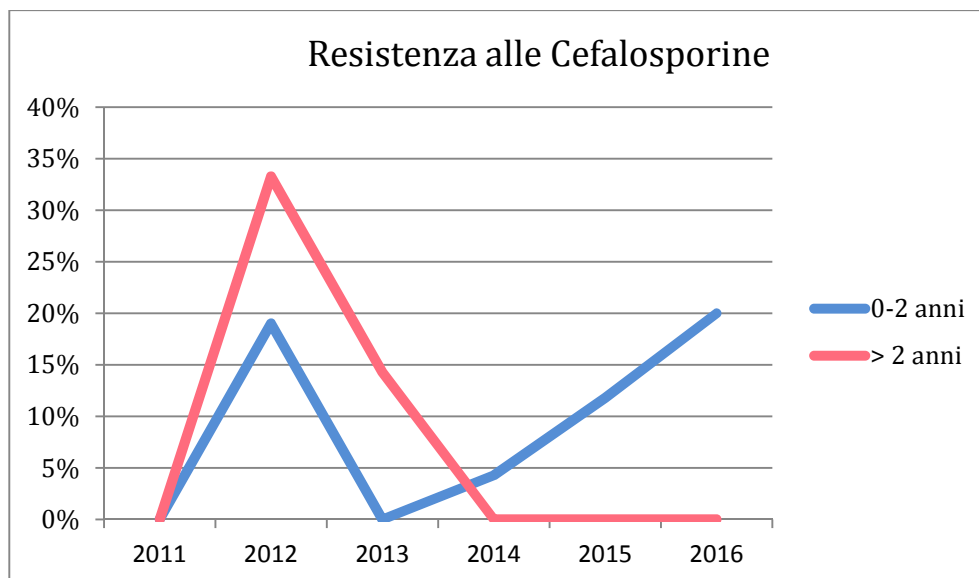


Figura 29. Resistenza alle cefalosporine in corso di IVU: anni 2011 – 2016; per fascia d'età.

In questa tesi è stata inoltre rilevata una crescente antibiotico-resistenza, soprattutto nella fascia d'età al di sotto dei due anni, verso classi di antibiotici più raramente utilizzati in ambito pediatrico, come chinolonici e gli aminoglicosidi, con un andamento sovrapponibile nel corso di questi ultimi anni (Fig. 30 e 31).

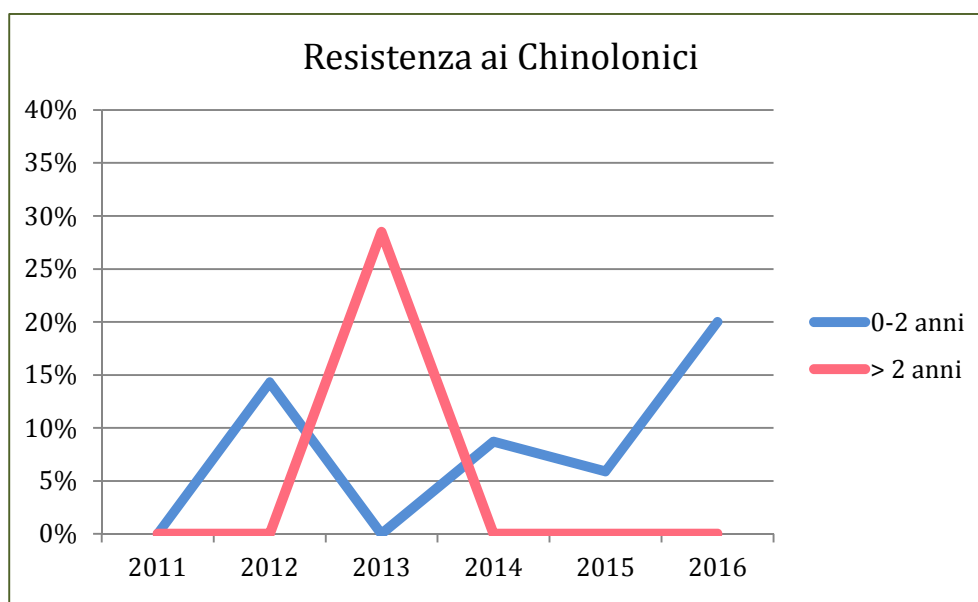


Figura 30. Resistenza ai chinolonici in corso di IVU: anni 2011 – 2016 per fascia d'età.

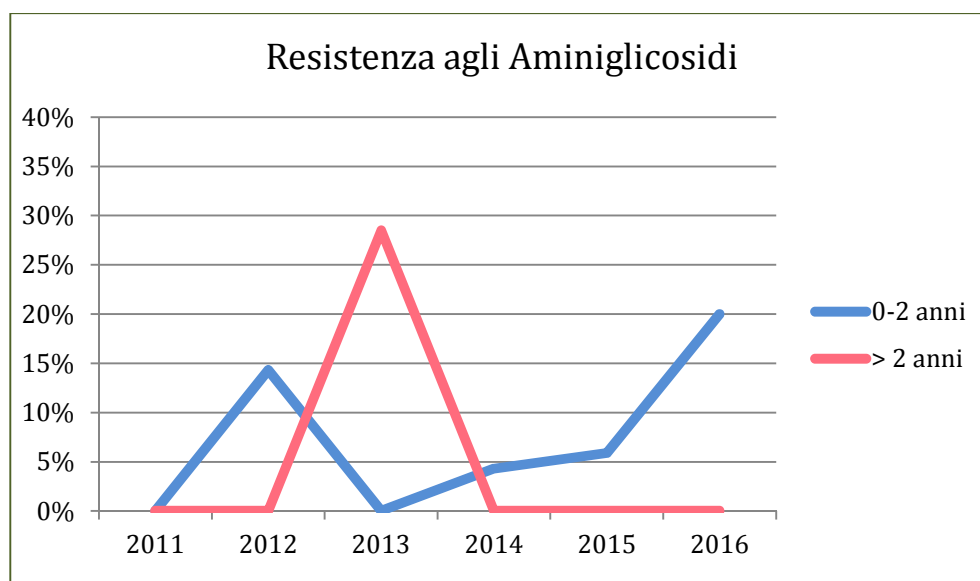


Figura 31. Resistenza agli aminoglicosidi in corso di IVU: anni 2011 – 2016 per fascia d'età.

Tale riscontro, non frequente in età pediatrica, può essere probabilmente imputato a diversi fattori. I principali meccanismi di resistenza verso questi antibiotici comprendono una diminuzione nella penetrazione intracellulare degli antibiotici a causa di mutazioni cromosomiche che si verificano nei geni che codificano per le DNA-girasi ed enzimi quali la Topoisomerasi IV con una diminuzione nella permeabilità della membrana plasmatica dei batteri. Tuttavia, negli ultimi anni, è emersa una resistenza ai chinoloni plasmide-mediata, per cui geni di resistenza non inducono resistenza ai chinoloni direttamente ma causano una diminuzione della suscettibilità e un aumento dei valori di concentrazione minima inibitoria del farmaco [129].

Un'ulteriore ipotesi dell'aumento della resistenza verso queste classi di antibiotici potrebbe essere la presenza di un aumentato numero di ceppi resistenti nella popolazione generale, selezionati tramite l'utilizzo di questi antibiotici in zootecnia, in particolare negli allevamenti intensivi [130].

In zootecnia, questi antimicrobici trovano, infatti, diverse applicazioni, come trattamento terapeutico delle patologie infettive con l'uso dosi elevate e per tempi relativamente brevi, a scopo profilattico, a basse dosi per periodi prolungati o come promotori della crescita a dosi bassissime per periodi molto lunghi; quest'ultimo è attualmente vietato in molti Paesi ma potrebbe essere utilizzato in alcuni allevamenti al di fuori dalle norme regolatorie.

Questo largo impiego in animali da allevamento potrebbe essere responsabile dello sviluppo o della diffusione di ceppi resistenti. I chinolonici vengono inoltre largamente utilizzati nelle terapie degli animali da compagnia. I fluorochinoloni sono largamente utilizzati per le infezioni del tratto respiratorio e digestivo nel pollame, sarebbero responsabili della trasmissione della resistenza alla ciprofloxacina nell'uomo a partire fin dal bambino. Questa ipotesi andrà verificata in ulteriori studi che permettano una caratterizzazione genomica delle resistenze.

Inoltre da uno studio condotto in Italia sull'uso degli antibiotici negli allevamenti dei bovini da carne è emerso come venissero comunemente usati i fluorochinoloni (54%) e in misura minore gli aminoglicosidi (15%) nelle enteriti neonatali e nella fase di svezzamento.

In questa tesi la nitrofurantoina è risultata invece uno degli antibiotici verso cui è presente una delle più basse frequenze resistenza. Questo "vecchio" chemioterapico potrebbe quindi tornare a rappresentare un'alternativa come trattamento di prima linea, in particolare nei bambini più grandi.

Tale ruolo non può invece essere svolto da un altro "vecchio" chemioterapico come il Trimetoprim-Sulfametossazolo che continua invece a presentare elevati livelli di resistenza (Fig. 32), non risultando quindi adeguato a questo scopo.

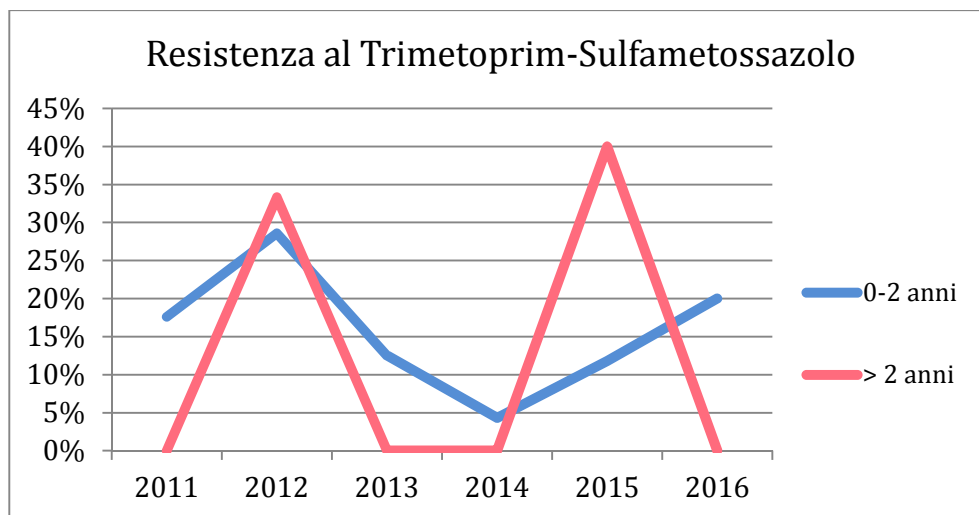


Figura 32. Resistenza al Trimetoprim-Sulfametossazolo in corso di IVU: anni 2011 – 2016 per fascia d'età.

La multiresistenza antibiotica sta dunque diventando un problema sempre più rilevante di salute pubblica, che si traduce in un fallimento delle terapie antibiotiche già a partire dall'età pediatrica. L'uso eccessivo di antibiotici, non solo nell'uomo, è il fattore più importante nello sviluppo della multiresistenza [131].

Infatti, uno dei più importanti meccanismi di resistenza agli antibiotici è la produzione di "β-lattamasi a spettro esteso (ESBL)" [132]. La diffusione di ESBL tra i ceppi di enterobatteri isolati conferisce resistenza a cefalosporine di terza e quarta generazione, monobattamici ed è associata ad una co-resistenza con altre classi di antimicrobici quali fluorochinoloni, tetracicline e aminoglicosidi [133]. Il gene che codifica per le ESBL si trova localizzato su plasmidi e viene trasmesso tra i batteri. Questi plasmidi possono trasportare geni di multiresistenza verso il Trimetoprim-Sulfametossazolo, i chinoloni e gli aminoglicosidi contemporaneamente [132].

Nel nostro studio è emersa una costante e crescente multiresistenza verso diverse classi di antibiotici nel corso dei sei anni presi in esame (Fig. 22).

Gli antibiotici maggiormente coinvolti sono risultati non solo quelli comunemente utilizzati nel bambino come l'Ampicillina (84%), l'Amoxicillina e Acido

Clavulanico (48%) e il Trimetoprim-Sulfametossazolo (44%) (Fig 23), ma anche classi di farmaci scarsamente utilizzate in età pediatrica, indicando la necessità di ripensare le strategie terapeutiche per i piccoli pazienti affetti da gravi patologie infettive come le IVU, anche nei primi due anni di vita.

7 Conclusioni

Nelle IVU un trattamento precoce si è dimostrato in grado di diminuire il tasso di morbilità a breve termine e di complicanze a lungo termine [4]. La terapia antibiotica è generalmente iniziata empiricamente sulla base della sintomatologia clinica e dei risultati dell'urostick.

La scelta corretta del farmaco antimicrobico empirico richiede una buona conoscenza della batteriologia tipicamente coinvolta nelle infezioni del tratto urinario e una conoscenza dei modelli di resistenza locali [105, 107] .

I dati di questa tesi dimostrano che pochi esami ematici di primo livello, in particolare la determinazione dei valori di PCT, sembra essere in grado di individuare la presenza di un'infezione delle alte vie urinarie. Inoltre, il riscontro contemporaneo di valori al di sopra dei livelli normali di GB, Pcr e PCT, sembra in grado di selezionare i bambini con una maggiore probabilità di multiresistenza antibiotica. I dati di questa tesi permettono inoltre di meglio caratterizzare i germi responsabili di IVU nell'area servita dall'Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana.

La conoscenza di tale dato è indispensabile per impostare un trattamento empirico di prima linea delle IVU, in quanto la resistenza all'antibiotico non deve superare il 20%, per somministrare una terapia empirica efficace.

Per evitare un ulteriore aumento dell'antibiotico-resistenza è inoltre necessario un corretto utilizzo di tali farmaci; in particolare si dovrebbe evitare l'uso di più

antibiotici contemporaneamente e l'utilizzo di dosi troppo basse o per periodi di tempo troppo brevi.

Data l'elevata resistenza verso i β -lattamici, in particolare le penicilline, dovrebbe essere presa in considerazione una terapia di prima scelta diversa rispetto a quella suggerita dalle linee guida vigenti, almeno nell'area in cui vivono i bambini oggetto di questa tesi. La Nitrofurantoina si è dimostrata gravata da bassa antibiotico-resistenza e potrebbe rappresentare un'alternativa per la terapia orale, soprattutto nei bambini più grandi.

La crescente resistenza verso classi antibiotiche scarsamente utilizzate in ambito pediatrico, come chinoloni e aminoglicosidi, suggerisce la probabile presenza di una resistenza che viene ereditata geneticamente tramite geni di multiresistenza e la necessità di ridurre l'utilizzo di tali farmaci anche in zootecnia, settore che potrebbe essere responsabile dello sviluppo di ceppi resistenti a molti antibiotici per uso umano [130].

Per il superamento delle resistenze agli antibiotici, sono attualmente in corso di valutazione nuovi approcci. Un primo esempio è rappresentato dallo studio della possibilità di coniugare antibiotici che non superano la parete cellulare e non sono quindi in grado di entrare nella cellula batterica, come le cosiddette nanoparticelle, quali i liposomi o le particelle polimeriche [134]. Questo permetterebbe di fare arrivare l'antibiotico attivo a livello intracellulare superando problemi terapeutici oggi non facilmente superabili. Altri approcci possono prevedere l'utilizzo di fattori già presenti in natura e utilizzati dagli stessi microrganismi per la competizione tra loro, come le batteriocidine [135] o l'utilizzo di prodotti non antibiotici come composti vegetali come i derivati del mirtillo americano per la prevenzione delle recidive di IVU [136].

Infine, per limitare l'andamento crescente di un'antibiotico-resistenza che sta diventando una vera e propria emergenza mondiale, è probabilmente auspicabile un atteggiamento più attendistico e meno interventistico per quanto riguarda l'uso di tali farmaci. Uno studio epidemiologico condotto nel periodo Ottobre-Dicembre 2012, ha calcolato la prevalenza puntuale sulla base del numero di neonati e bambini in terapia antibiotica nel giorno in cui sette ospedali italiani selezionati sono stati analizzati. I principali risultati sono stati che, per quanto riguarda i neonati, vi è un'alta prescrizione intraospedaliera di antibiotici soprattutto per profilassi (62.8%), con i principali antibiotici usati rappresentati da penicilline e aminoglicosidi.

In ambito pediatrico, è emerso un uso eccessivo, soprattutto se confrontato con altri paesi europei, nell'utilizzo di cefalosporine di terza generazione (nello specifico ceftriaxone) nel trattamento di infezioni delle basse vie aeree. Inoltre, è anche emerso un uso al di sopra della media di carbapenemici (8.9% rispetto al 4.2% in Europa), dato allarmante in vista della crescente epidemia di ceppi resistenti a questa classe di antibiotici. Al di sopra delle attese anche l'utilizzo di quinolonici (ciprofloxacina) per infezioni basse vie aeree (7.7%), anche se le principali indicazioni erano in soggetti con patologie di base come fibrosi cistica o immunodeficienza.

Sembra quindi necessaria l'implementazione di programmi per controllare e modificare gli attuali modelli di prescrizione di antibiotici in età pediatrica, per evitare l'emergere di batteri con resistenze antibiotiche multiple, che rappresentano una vera minaccia per il futuro [137].

8 Bibliografia

1. Whiting, P., et al., *Clinical effectiveness and cost-effectiveness of tests for the diagnosis and investigation of urinary tract infection in children: a systematic review and economic model*. Health Technol Assess, 2006. **10**(36): p. iii-iv, xi-xiii, 1-154.
2. Stein, R., et al., *Urinary tract infections in children: EAU/ESPU guidelines*. Eur Urol, 2015. **67**(3): p. 546-58.
3. Farhat, W. and G. McLorie, *Urethral syndromes in children*. Pediatr Rev, 2001. **22**(1): p. 17-21.
4. Morello, W., et al., *Acute pyelonephritis in children*. Pediatr Nephrol, 2015.
5. Wang, H., F.X. Liang, and X.P. Kong, *Characteristics of the phagocytic cup induced by uropathogenic Escherichia coli*. J Histochem Cytochem, 2008. **56**(6): p. 597-604.
6. Edmonson, M.B. and E.R. Wald, *Treatment of pyelonephritis and risk of renal scarring*. Pediatrics, 2009. **123**(3): p. e544-5; author reply 545.
7. Zaffanello, M., et al., *Genetic risk for recurrent urinary tract infections in humans: a systematic review*. J Biomed Biotechnol, 2010. **2010**: p. 321082.
8. Zaffanello, M., et al., *Genetic susceptibility to renal scar formation after urinary tract infection: a systematic review and meta-analysis of candidate gene polymorphisms*. Pediatr Nephrol, 2011. **26**(7): p. 1017-29.
9. Hoberman, A., et al., *Prevalence of urinary tract infection in febrile infants*. J Pediatr, 1993. **123**(1): p. 17-23.
10. Bonadio, W.A., *Urine culturing technique in febrile infants*. Pediatr Emerg Care, 1987. **3**(2): p. 75-8.
11. Bauchner, H., et al., *Prevalence of bacteriuria in febrile children*. Pediatr Infect Dis J, 1987. **6**(3): p. 239-42.
12. Roberts, K.B., et al., *Urinary tract infection in infants with unexplained fever: a collaborative study*. J Pediatr, 1983. **103**(6): p. 864-7.
13. Craig, J.C., et al., *The accuracy of clinical symptoms and signs for the diagnosis of serious bacterial infection in young febrile children: prospective cohort study of 15 781 febrile illnesses*. BMJ, 2010. **340**: p. c1594.
14. Slater, M. and S.E. Krug, *Evaluation of the infant with fever without source: an evidence based approach*. Emerg Med Clin North Am, 1999. **17**(1): p. 97-126, viii-ix.
15. Beetz, R., *Evaluation and management of urinary tract infections in the neonate*. Curr Opin Pediatr, 2012. **24**(2): p. 205-11.
16. Biyikli, N.K., et al., *Neonatal urinary tract infections: analysis of the patients and recurrences*. Pediatr Int, 2004. **46**(1): p. 21-5.
17. Bachur, R.G. and M.B. Harper, *Predictive model for serious bacterial infections among infants younger than 3 months of age*. Pediatrics, 2001. **108**(2): p. 311-6.

18. Craig, J.C., et al., *Symptomatic urinary tract infection in preschool Australian children*. J Paediatr Child Health, 1998. **34**(2): p. 154-9.
19. Tutunculer, F., et al., *Transient Pseudohypoadosteronism in an infant with urinary tract anomaly*. Pediatr Int, 2004. **46**(5): p. 618-20.
20. Nandagopal, R., P. Vaidyanathan, and P. Kaplowitz, *Transient Pseudohypoadosteronism due to Urinary Tract Infection in Infancy: A Report of 4 Cases*. Int J Pediatr Endocrinol, 2009. **2009**: p. 195728.
21. Kocer, D., et al., *Diagnostic Accuracy of a New Urinalysis System, DongJiu, for Diagnosis of Urinary Tract Infection*. Ann Clin Lab Sci, 2015. **45**(6): p. 686-91.
22. Subcommittee on Urinary Tract Infection, S.C.o.Q.I., Management, and K.B. Roberts, *Urinary tract infection: clinical practice guideline for the diagnosis and management of the initial UTI in febrile infants and children 2 to 24 months*. Pediatrics, 2011. **128**(3): p. 595-610.
23. St John, A., et al., *The use of urinary dipstick tests to exclude urinary tract infection: a systematic review of the literature*. Am J Clin Pathol, 2006. **126**(3): p. 428-36.
24. Glissmeyer, E.W., et al., *Dipstick screening for urinary tract infection in febrile infants*. Pediatrics, 2014. **133**(5): p. e1121-7.
25. James, G.P., K.L. Paul, and J.B. Fuller, *Urinary nitrite and urinary-tract infection*. Am J Clin Pathol, 1978. **70**(4): p. 671-8.
26. Lenke, R.R. and J.P. Van Dorsten, *The efficacy of the nitrite test and microscopic urinalysis in predicting urine culture results*. Am J Obstet Gynecol, 1981. **140**(4): p. 427-9.
27. Lohr, J.A., et al., *Making a presumptive diagnosis of urinary tract infection by using a urinalysis performed in an on-site laboratory*. J Pediatr, 1993. **122**(1): p. 22-5.
28. McLoughlin, T.G., Jr. and M.M. Joseph, *Antibiotic resistance patterns of uropathogens in pediatric emergency department patients*. Acad Emerg Med, 2003. **10**(4): p. 347-51.
29. Weisz, D., J.A. Seabrook, and R.K. Lim, *The presence of urinary nitrites is a significant predictor of pediatric urinary tract infection susceptibility to first- and third-generation cephalosporins*. J Emerg Med, 2010. **39**(1): p. 6-12.
30. Mahyar, A., et al., *Can urinary nitrite results be used to conduct antimicrobial option for urinary tract infection in children?* Iran J Pediatr, 2012. **22**(2): p. 237-40.
31. Grant, D.C., L. Chan, and A. Waterbrook, *Urine nitrite not correlated with bacterial resistance to cephalosporins*. J Emerg Med, 2005. **28**(3): p. 321-3.
32. Larson, M.J., et al., *Can urinary nitrite results be used to guide antimicrobial choice for urinary tract infection?* J Emerg Med, 1997. **15**(4): p. 435-8.
33. Pecile, P., et al., *Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children*. Pediatrics, 2004. **114**(2): p. e249-54.

34. Juliano, T.M., et al., *Incidence of abnormal imaging and recurrent pyelonephritis after first febrile urinary tract infection in children 2 to 24 months old*. J Urol, 2013. **190**(4 Suppl): p. 1505-10.
35. Leach, D., *Improving the care of children with urinary tract infection: use of a clinical decision proforma*. BMJ Qual Improv Rep, 2015. **4**(1).
36. Beetz, R., *May we go on with antibacterial prophylaxis for urinary tract infections?* Pediatr Nephrol, 2006. **21**(1): p. 5-13.
37. Hadjipanayis, A., et al., *Current primary care management of children aged 1-36 months with urinary tract infections in Europe: large scale survey of paediatric practice*. Arch Dis Child, 2015. **100**(4): p. 341-7.
38. Becknell, B., et al., *The diagnosis, evaluation and treatment of acute and recurrent pediatric urinary tract infections*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2015. **13**(1): p. 81-90.
39. Choi da, M., et al., *Evaluation of new American Academy of Pediatrics guideline for febrile urinary tract infection*. Korean J Pediatr, 2015. **58**(9): p. 341-6.
40. Montini, G., et al., *Value of imaging studies after a first febrile urinary tract infection in young children: data from Italian renal infection study 1*. Pediatrics, 2009. **123**(2): p. e239-46.
41. Marks, S.D., I. Gordon, and K. Tullus, *Imaging in childhood urinary tract infections: time to reduce investigations*. Pediatr Nephrol, 2008. **23**(1): p. 9-17.
42. el Hajjar, M., et al., *[Power Doppler sonography and acute pyelonephritis in children: comparison with Tc-DMSA scintigraphy]*. Arch Pediatr, 2002. **9**(1): p. 21-5.
43. Ilarslan, N.E., et al., *The role of tissue harmonic imaging ultrasound combined with power Doppler ultrasound in the diagnosis of childhood febrile urinary tract infections*. Turk Pediatri Ars, 2015. **50**(2): p. 90-5.
44. Bykov, S., et al., *Power Doppler sonography versus Tc-99m DMSA scintigraphy for diagnosing acute pyelonephritis in children: are these two methods comparable?* Clin Nucl Med, 2003. **28**(3): p. 198-203.
45. Doganis, D. and K. Sinaniotis, *Early antibiotic treatment of pyelonephritis in children is still mandatory*. Pediatrics, 2009. **123**(1): p. e173-4; author reply e174.
46. Coulthard, M.G., et al., *Can prompt treatment of childhood UTI prevent kidney scarring?* Pediatr Nephrol, 2009. **24**(10): p. 2059-63.
47. Oh, M.M., et al., *The impact of therapeutic delay time on acute scintigraphic lesion and ultimate scar formation in children with first febrile UTI*. Eur J Pediatr, 2012. **171**(3): p. 565-70.
48. Ammenti, A., et al., *Febrile urinary tract infections in young children: recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up*. Acta Paediatr, 2012. **101**(5): p. 451-7.
49. Montini, G., K. Tullus, and I. Hewitt, *Febrile urinary tract infections in children*. N Engl J Med, 2011. **365**(3): p. 239-50.

50. Hewitt, I.K. and G. Montini, *Pediatric febrile urinary tract infections: the current state of play*. Ital J Pediatr, 2011. **37**: p. 57.
51. Beetz, R., et al., *[Urinary tract infections in infants and children -- a consensus on diagnostic, therapy and prophylaxis]*. Urologe A, 2007. **46**(2): p. 112, 114-8, 120-3.
52. Suson, K.D. and R. Mathews, *Evaluation of children with urinary tract infection--impact of the 2011 AAP guidelines on the diagnosis of vesicoureteral reflux using a historical series*. J Pediatr Urol, 2014. **10**(1): p. 182-5.
53. Simoes e Silva, A.C., et al., *Risk of hypertension in primary vesicoureteral reflux*. Pediatr Nephrol, 2007. **22**(3): p. 459-62.
54. Linhares, I., et al., *Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000-2009)*. BMC Infect Dis, 2013. **13**: p. 19.
55. *Bibliography. Current world literature. Antimicrobial agents: bacterial/fungal*. Curr Opin Infect Dis, 2005. **18**(6): p. 561-72.
56. Wright, G.D., *Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification*. Adv Drug Deliv Rev, 2005. **57**(10): p. 1451-70.
57. Lambert, P.A., *Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites*. Adv Drug Deliv Rev, 2005. **57**(10): p. 1471-85.
58. Kohanski, M.A., D.J. Dwyer, and J.J. Collins, *How antibiotics kill bacteria: from targets to networks*. Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(6): p. 423-35.
59. Baron, E.J., et al., *A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a)*. Clin Infect Dis, 2013. **57**(4): p. e22-e121.
60. Lee, M., et al., *Muropeptides in Pseudomonas aeruginosa and their Role as Elicitors of beta-Lactam-Antibiotic Resistance*. Angew Chem Int Ed Engl, 2016.
61. Culyba, M.J., C.Y. Mo, and R.M. Kohli, *Targets for Combating the Evolution of Acquired Antibiotic Resistance*. Biochemistry, 2015. **54**(23): p. 3573-82.
62. Kumar, S., et al., *Bacterial Multidrug Efflux Pumps of the Major Facilitator Superfamily as Targets for Modulation*. Infect Disord Drug Targets, 2016.
63. Depardieu, F., et al., *Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression*. Clin Microbiol Rev, 2007. **20**(1): p. 79-114.
64. Human Microbiome Jumpstart Reference Strains, C., et al., *A catalog of reference genomes from the human microbiome*. Science, 2010. **328**(5981): p. 994-9.
65. Dominguez-Bello, M.G., et al., *Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(26): p. 11971-5.
66. Qin, J., et al., *A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing*. Nature, 2010. **464**(7285): p. 59-65.
67. Round, J.L. and S.K. Mazmanian, *The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease*. Nat Rev Immunol, 2009. **9**(5): p. 313-23.

68. Khoruts, A., et al., *Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea*. J Clin Gastroenterol, 2010. **44**(5): p. 354-60.
69. Muegge, B.D., et al., *Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans*. Science, 2011. **332**(6032): p. 970-4.
70. Jernberg, C., et al., *Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota*. Microbiology, 2010. **156**(Pt 11): p. 3216-23.
71. Blaser, M.J. and S. Falkow, *What are the consequences of the disappearing human microbiota?* Nat Rev Microbiol, 2009. **7**(12): p. 887-94.
72. Dethlefsen, L. and D.A. Relman, *Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108 Suppl 1**: p. 4554-61.
73. Robinson, C.J. and V.B. Young, *Antibiotic administration alters the community structure of the gastrointestinal microbiota*. Gut Microbes, 2010. **1**(4): p. 279-284.
74. Antonopoulos, D.A., et al., *Reproducible community dynamics of the gastrointestinal microbiota following antibiotic perturbation*. Infect Immun, 2009. **77**(6): p. 2367-75.
75. Dethlefsen, L., et al., *The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing*. PLoS Biol, 2008. **6**(11): p. e280.
76. Jakobsson, H.E., et al., *Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome*. PLoS One, 2010. **5**(3): p. e9836.
77. Sommer, M.O., G. Dantas, and G.M. Church, *Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora*. Science, 2009. **325**(5944): p. 1128-31.
78. Shoemaker, N.B., et al., *Evidence for extensive resistance gene transfer among Bacteroides spp. and among Bacteroides and other genera in the human colon*. Appl Environ Microbiol, 2001. **67**(2): p. 561-8.
79. Willing, B.P., S.L. Russell, and B.B. Finlay, *Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism*. Nat Rev Microbiol, 2011. **9**(4): p. 233-43.
80. Brandl, K., et al., *Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits*. Nature, 2008. **455**(7214): p. 804-7.
81. Vignaroli, C., et al., *Multidrug-resistant enterococci in animal meat and faeces and co-transfer of resistance from an Enterococcus durans to a human Enterococcus faecium*. Curr Microbiol, 2011. **62**(5): p. 1438-47.
82. Sorensen, T.L., et al., *Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic-resistant Enterococcus faecium from chicken and pork*. N Engl J Med, 2001. **345**(16): p. 1161-6.

83. Allen, H.K., et al., *Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments*. Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(4): p. 251-9.
84. Lancaster, H., et al., *Prevalence and identification of tetracycline-resistant oral bacteria in children not receiving antibiotic therapy*. FEMS Microbiol Lett, 2003. **228**(1): p. 99-104.
85. Ready, D., et al., *Effect of amoxicillin use on oral microbiota in young children*. Antimicrob Agents Chemother, 2004. **48**(8): p. 2883-7.
86. Sjolund, M., et al., *Persistence of resistant Staphylococcus epidermidis after single course of clarithromycin*. Emerg Infect Dis, 2005. **11**(9): p. 1389-93.
87. Lofmark, S., et al., *Clindamycin-induced enrichment and long-term persistence of resistant Bacteroides spp. and resistance genes*. J Antimicrob Chemother, 2006. **58**(6): p. 1160-7.
88. Jernberg, C., et al., *Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota*. ISME J, 2007. **1**(1): p. 56-66.
89. Mazaheri Nezhad Fard, R., M.D. Barton, and M.W. Heuzenroeder, *Bacteriophage-mediated transduction of antibiotic resistance in enterococci*. Lett Appl Microbiol, 2011. **52**(6): p. 559-64.
90. Sommer, M.O. and G. Dantas, *Antibiotics and the resistant microbiome*. Curr Opin Microbiol, 2011. **14**(5): p. 556-63.
91. Lester, C.H., et al., *In vivo transfer of the vanA resistance gene from an Enterococcus faecium isolate of animal origin to an E. faecium isolate of human origin in the intestines of human volunteers*. Antimicrob Agents Chemother, 2006. **50**(2): p. 596-9.
92. Nicolini, G., F. Sperotto, and S. Esposito, *Combating the rise of antibiotic resistance in children*. Minerva Pediatr, 2014. **66**(1): p. 31-9.
93. Chiappini, E., et al., *Rational use of antibiotics for the management of children's respiratory tract infections in the ambulatory setting: an evidence-based consensus by the Italian Society of Preventive and Social Pediatrics*. Paediatr Respir Rev, 2014. **15**(3): p. 231-6.
94. Versporten, A., et al., *The antibiotic resistance and prescribing in European Children project: a neonatal and pediatric antimicrobial web-based point prevalence survey in 73 hospitals worldwide*. Pediatr Infect Dis J, 2013. **32**(6): p. e242-53.
95. Bassetti, M., et al., *New antibiotics for bad bugs: where are we?* Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2013. **12**: p. 22.
96. Garazzino, S., et al., *New antibiotics for paediatric use: a review of a decade of regulatory trials submitted to the European Medicines Agency from 2000--why aren't we doing better?* Int J Antimicrob Agents, 2013. **42**(2): p. 99-118.
97. Bassetti, M., D.P. Nicolau, and T. Calandra, *What's new in antimicrobial use and resistance in critically ill patients?* Intensive Care Med, 2014. **40**(3): p. 422-6.
98. Rocchi, F., et al., *The European paediatric legislation: benefits and perspectives*. Ital J Pediatr, 2010. **36**: p. 56.

99. Bonati, M. and C. Pandolfini, *Off-label drug use in children should be rational*. Arch Dis Child, 2011. **96**(9): p. 870-1.
100. Porta, A., et al., *Off-label antibiotic use in children in three European countries*. Eur J Clin Pharmacol, 2010. **66**(9): p. 919-27.
101. Zingg, W. and K.M. Posfay-Barbe, *Antibiotic use in children - off-label use*. Curr Drug Targets, 2012. **13**(7): p. 885-92.
102. Porta, A., et al., *Comparing neonatal and paediatric antibiotic prescribing between hospitals: a new algorithm to help international benchmarking*. J Antimicrob Chemother, 2012. **67**(5): p. 1278-86.
103. Gurnee, E.A., et al., *Fecal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant Enterococcus in healthy children*. Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(2): p. 1261-2.
104. Esposito, S. and N. Principi, *Pharmacotherapy for pneumococcal infections: an update*. Expert Opin Pharmacother, 2013. **14**(1): p. 65-77.
105. Apisarnthanarak, A., P. Kiratisin, and L.M. Mundy, *Clinical and molecular epidemiology of healthcare-associated infections due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae that harbor multiple ESBL genes*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008. **29**(11): p. 1026-34.
106. Bonnet, R., *Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes*. Antimicrob Agents Chemother, 2004. **48**(1): p. 1-14.
107. De Francesco, M.A., et al., *Urinary tract infections in Brescia, Italy: etiology of uropathogens and antimicrobial resistance of common uropathogens*. Med Sci Monit, 2007. **13**(6): p. BR136-44.
108. Yuksel, S., et al., *Antibiotic resistance of urinary tract pathogens and evaluation of empirical treatment in Turkish children with urinary tract infections*. Int J Antimicrob Agents, 2006. **28**(5): p. 413-6.
109. Leonard, D.A., R.A. Bonomo, and R.A. Powers, *Class D beta-lactamases: a reappraisal after five decades*. Acc Chem Res, 2013. **46**(11): p. 2407-15.
110. Livermore, D.M. and P.M. Hawkey, *CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK*. J Antimicrob Chemother, 2005. **56**(3): p. 451-4.
111. Mehrgan, H., M. Rahbar, and Z. Arab-Halvahi, *High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital in Tehran, Iran*. J Infect Dev Ctries, 2010. **4**(3): p. 132-8.
112. Calbo, E., et al., *Risk factors for community-onset urinary tract infections due to Escherichia coli harbouring extended-spectrum beta-lactamases*. J Antimicrob Chemother, 2006. **57**(4): p. 780-3.
113. Rodriguez-Bano, J., et al., *Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in nonhospitalized patients*. J Clin Microbiol, 2004. **42**(3): p. 1089-94.
114. Colodner, R., et al., *Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2004. **23**(3): p. 163-7.

115. Rodriguez-Bano, J., et al., *Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli*. Arch Intern Med, 2008. **168**(17): p. 1897-902.
116. Apisarnthanarak, A., P. Kiratisin, and L.M. Mundy, *Predictors of mortality from community-onset bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008. **29**(7): p. 671-4.
117. Schiappa, D.A., et al., *Ceftazidime-resistant Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli bloodstream infection: a case-control and molecular epidemiologic investigation*. J Infect Dis, 1996. **174**(3): p. 529-36.
118. Paterson, D.L., et al., *Antibiotic therapy for Klebsiella pneumoniae bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases*. Clin Infect Dis, 2004. **39**(1): p. 31-7.
119. Fan, N.C., et al., *Rise of community-onset urinary tract infection caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in children*. J Microbiol Immunol Infect, 2014. **47**(5): p. 399-405.
120. Chung, S.D., et al., *Elevation of serum c-reactive protein in patients with OAB and IC/BPS implies chronic inflammation in the urinary bladder*. Neurourol Urodyn, 2011. **30**(3): p. 417-20.
121. Hsiao, S.M., H.H. Lin, and H.C. Kuo, *The role of serum C-reactive protein in women with lower urinary tract symptoms*. Int Urogynecol J, 2012. **23**(7): p. 935-40.
122. Pratt, A. and M.W. Attia, *Duration of fever and markers of serious bacterial infection in young febrile children*. Pediatr Int, 2007. **49**(1): p. 31-5.
123. Kupelian, V., et al., *Association of lower urinary tract symptoms and the metabolic syndrome: results from the Boston area community health survey*. J Urol, 2013. **189**(1 Suppl): p. S107-14; discussion S115-6.
124. Tarhan, H., et al., *C-reactive protein levels in girls with lower urinary tract symptoms*. J Pediatr Urol, 2016. **12**(2): p. 105 e1-4.
125. Yo, C.H., et al., *Comparison of the test characteristics of procalcitonin to C-reactive protein and leukocytosis for the detection of serious bacterial infections in children presenting with fever without source: a systematic review and meta-analysis*. Ann Emerg Med, 2012. **60**(5): p. 591-600.
126. Andreola, B., et al., *Procalcitonin and C-reactive protein as diagnostic markers of severe bacterial infections in febrile infants and children in the emergency department*. Pediatr Infect Dis J, 2007. **26**(8): p. 672-7.
127. Zhang, H., et al., *Diagnostic value of serum procalcitonin for acute pyelonephritis in infants and children with urinary tract infections: an updated meta-analysis*. World J Urol, 2016. **34**(3): p. 431-41.
128. Russell, G., *Antibiotic resistance in children with E coli urinary tract infection*. BMJ, 2016. **352**: p. i1399.

129. Yilmaz, N., et al., *Antimicrobial susceptibilities of Escherichia coli isolates as agents of community-acquired urinary tract infection (2008-2014)*. Turk J Urol, 2016. **42**(1): p. 32-6.
130. van den Bogaard, A.E. and E.E. Stobberingh, *Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans*. Int J Antimicrob Agents, 2000. **14**(4): p. 327-35.
131. Dehbanipour, R., et al., *High prevalence of multidrug-resistance uropathogenic Escherichia coli strains, Isfahan, Iran*. J Nat Sci Biol Med, 2016. **7**(1): p. 22-6.
132. Qiao, L.D., et al., *Characteristics of urinary tract infection pathogens and their in vitro susceptibility to antimicrobial agents in China: data from a multicenter study*. BMJ Open, 2013. **3**(12): p. e004152.
133. Falagas, M.E., et al., *Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review*. Lancet Infect Dis, 2010. **10**(1): p. 43-50.
134. Abed, N. and P. Couvreur, *Nanocarriers for antibiotics: a promising solution to treat intracellular bacterial infections*. Int J Antimicrob Agents, 2014. **43**(6): p. 485-96.
135. Nigam, A., D. Gupta, and A. Sharma, *Treatment of infectious disease: beyond antibiotics*. Microbiol Res, 2014. **169**(9-10): p. 643-51.
136. Coreddu, D. *Infezioni delle vie urinarie. Il ruolo delle piante medicinali nella prevenzione*. Il Pediatra, 2016. **20**(3): p. 44-49.
137. De Luca, M., et al. *Prescrizione di antibiotici nei neonati e bambini ricoverati in Italia: Appropriata o eccessiva?* PLoS One. 2016. **11**(5): e0154662